

**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química**

Leandro Soares Alves Pereira

**ANÁLISE MULTIVARIADA E ESPECTROSCOPIA NO
INFRAVERMELHO APLICADAS EM ANÁLISES FORENSES:
DROGAS E MEDICAMENTOS**

**Belo Horizonte
2018**

UFMG/ICEx/DQ. 1267^a

T. 572^a

Leandro Soares Alves Pereira

**Análise multivariada e espectroscopia no infravermelho
aplicadas em análises forenses: drogas e medicamentos**

**Tese apresentada ao Departamento de
Química do Instituto de Ciências Exatas da
Universidade Federal de Minas Gerais,
como requisito parcial para a obtenção do
grau de Doutor em Ciências – Química**

Belo Horizonte

2018

P436a Pereira, Leandro Soares Alves
2018 Análise multivariada e espectroscopia no
T infravermelho aplicadas em análises forenses
[manuscrito]: drogas e medicamentos / Leandro Soares
Alves Pereira. 2018.
[xi], 109 f. : il.

Orientador: Marcelo Martins de Sena.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais - Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química legal - Teses 2. Análise multivariada -
Teses 3. Espectroscopia de infravermelho - Teses 4.
Drogas - Abuso - Teses 5. Medicamentos - Adulteração e
inspeção - Teses 6. Substâncias - Abuso - Teses I. Sena,
Marcelo Martins de, Orientador II. Título.

CDU 043

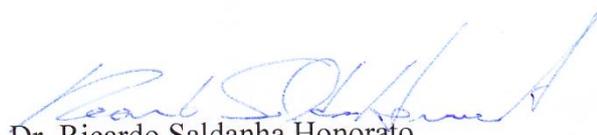
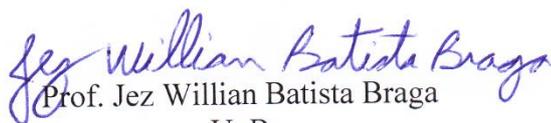
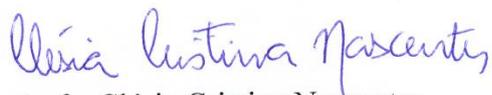
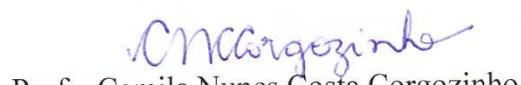
**"Análise Multivariada e Espectroscopia no Infravermelho Aplicadas em
Análises Forenses: Drogas e Medicamentos"**

Leandro Soares Alves Pereira

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:



Prof. Marcelo Martins de Sena - Orientador
UFMG


Dr. Ricardo Saldanha Honorato
Polícia Federal
Prof. Jez Willian Batista Braga
UnB
Profa. Clésia Cristina Nascentes
UFMG
Profa. Camila Nunes Costa Corgozinho
UFMG

Belo Horizonte, 23 de fevereiro de 2018.

Agradecimentos

Essa tese é fruto de muito trabalho, que só foi possível pela ajuda de muitas pessoas. Agradeço então:

À minha família pelo suporte emocional em momentos tão difíceis.

À minha companheira Ana Flávia, por todo apoio, alegrias e por ser brilhante.

Aos colegas e parceiros do Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Minas Gerais, em especial José Coelho, Fernanda e Frederico, que auxiliaram ativamente neste trabalho.

Ao professor Marcelo, pelo conhecimento, apoio e debates durante todo o curso.

Aos amigos do GEQQATE, que foram importantes em muitos momentos do trabalho.

A todos os amigos do DQ, em especial os dos laboratórios 214, 157, 163 e 167.

A todos os amigos que a vida me trouxe, pelo auxílio pessoal, mental e principalmente espiritual.

Aos órgãos de fomento pelos auxílios financeiros: CAPES (bolsa de estudo e edital n°25/14 - PRÓ-FORENSE), CNPq (bolsa de estudo) e FAPEMIG (auxílios a congressos).

“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido. Agora é hora de compreender mais para temer menos.”

Marie Curie

Resumo

Processos judiciais advindos da apreensão de produtos ilícitos, como drogas e medicamentos falsificados, necessitam de comprovação da composição química desses produtos. Para suprir essa necessidade, novos métodos de análise química que sejam rápidos e confiáveis devem ser desenvolvidos. Essa tese propõe novos métodos de análise qualitativa baseados em espectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier com acessório de refletância total atenuada (ATR-FTIR) e dois métodos quimiométricos de classificação supervisionada: análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e modelagem independente e flexível por analogia de classes (SIMCA). Pela grande demanda de análises de drogas ilícitas apreendidas, dois dos métodos desenvolvidos têm essa finalidade, especialmente para drogas sintéticas: um método visou a identificação de drogas em selos e o outro método foi usado para identificar drogas em comprimidos tipo ecstasy. Um terceiro método foi desenvolvido para análise de medicamentos falsificados (sildenafil), outro setor de grande importância para laboratórios de química da perícia criminal. A validação analítica foi feita para atestar a eficiência dos métodos desenvolvidos. As taxas de confiabilidade dos métodos para drogas em selos, drogas em comprimidos e medicamentos falsificados foram 86,2%, 100% e 96,4%, respectivamente. Os métodos são rápidos e apresentam resultados objetivos, duas características desejáveis para sua aplicação na perícia forense.

Palavras-chave: Análise forense; quimiometria; drogas ilícitas; novas substâncias psicoativas (NPS); medicamentos falsificados; ATR-FTIR.

Abstract

Court cases must be sustained in solid evidences, thus forensic analysis of seized products, such as illicit drugs and counterfeit medicines, must be performed. Consequently, new rapid and reliable analytical methods must be developed. This thesis introduces qualitative analytical methods based on attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and two supervised classification chemometric methods, partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) and soft independent modeling by class analogy (SIMCA). Illicit drugs are responsible for most of the analyses in forensic chemistry laboratories. So, two methods were developed to identify synthetic drugs: one for blotter samples and other for ecstasy-like tablets. A third method was developed for the analysis of counterfeit medicines (sildenafil), which is an important group of seized samples for forensic chemistry. Each method was validated to prove its effectiveness. Reliability rates of the methods for drugs in blotters, drugs in tablets and counterfeit medicines were 86.2%, 100% e 96.4%, respectively. The developed methods are rapid and produce objective results, which are desirable features of forensic analysis methods.

Keywords: Forensic analysis; chemometrics; illicit drugs; new psychoactive substances (NPS); counterfeit medicine; ATR-FTIR.

Lista de figuras

Figura 2.1 – Estrutura química das fenetilaminas	5
Figura 2.2 – Estruturas químicas de: (A) anfetamina; (B) 25C-NBOMe; (C) 2C-H; e (D) MAL	6
Figura 2.3 – Estruturas químicas de: (A) Catinona; (B) Pirovalerona; (C) α -PVP; e (D) PV-8	7
Figura 2.4 – Produtos fora do padrão e falsificados reportados (2013-2017) à OMS: Número de ocorrências (à esquerda) e número de países afetados (à direita)	11
Figura 2.7 – Modelos quânticos de (A) oscilador harmônico e (B) oscilador anarmônico	14
Figura 2.8 – Cristal ATR	16
Figura 2.5 – Sistema de classificação para análise discriminante (à esquerda) e modelagem de classe (à direita)	18
Figura 2.6 – Organização da matriz Y para um modelo de ordem dois	19
Figura 3.1 – Cartela de selos apreendida	28
Figura 3.2 – Espectros de infravermelho médio das 73 amostras de selos apreendidos e das 21 amostras de papéis	36
Figura 3.3 – Escores em PC1 <i>versus</i> escores em PC2	37
Figura 3.4 – Espectros médios de LSD1 e LSD2	38
Figura 3.5 – Valores preditos de y para as classes (A) NBOMe, (B) 2C-H, (C) LSD1, (D) LSD2, (E) MAL e (F) papel	40
Figura 3.5 (cont.) – Valores preditos de y para as classes (A) NBOMe, (B) 2C-H, (C) LSD1, (D) LSD2, (E) MAL e (F) papel	41
Figura 3.6 – Espectros de referência das classes NBOMe (25B-NBOMe, 25C-NBOMe e 25I-NBOMe), 2C-H, LSD1, LSD2 (copolímero), MAL e papel	43
Figura 3.6 (cont.) – Espectros de referência das classes NBOMe (25B-NBOMe, 25C-NBOMe e 25I-NBOMe), 2C-H, LSD1, LSD2 (copolímero), MAL e papel	44
Figura 3.7 – Vetores de regressão (à esquerda) e VIP (à direita) para as classes (A) NBOMe, (B) 2C-H, (C) LSD1, (D) LSD2, (E) MAL e (F) papel	45
Figura 3.7(cont.) – Vetores de regressão (à esquerda) e VIP (à direita) para as classes (A) NBOMe, (B) 2C-H, (C) LSD1, (D) LSD2, (E) MAL e (F) papel	46
Figura 3.8 – Valores preditos de y para as subclasses (A) 25B-NBOMe, (B) 25C-NBOMe e (C) 25I-NBOMe	52
Figura 3.9 – Vetores de regressão e VIP para as subclasses (A) 25B-NBOMe, (B) 25C-NBOMe e (C) 25I-NBOMe	53
Figura 4.1 – Comprimidos tipo ecstasy apreendidos contendo (A) MDMA, (B) PV-8 e (C) 5-MeO-MIPT	58
Figura 4.2 – Espectros ATR-FTIR de 92 amostras de ecstasy	64
Figura 4.3 – Escores (A, C e E) e pesos (B, D e F) em PC1, PC2 e PC3, respectivamente	66
Figura 4.4 – Valores preditos de y para as classes (A) 5-MeO-MIPT, (B) MDs, (C) Metanfetamina e (D) Catinonas, no modelo principal PLS-DA	70
Figura 4.5 – Vetores de regressão e VIP para as classes (A) 5-MeO-MIPT, (B) MDs C) Metanfetamina e (D) Catinonas, para o modelo principal PLS-DA	72
Figura 4.6 – Valores preditos de y para a subclasse MDMA	76
Figura 4.7 – Vetores de regressão e VIP para a subclasse MDMA	76
Figura 4.8 – Valores preditos de Y para as subclasses (A) Metilona, (B) Etilona e (C) PV-8	78
Figura 4.9 – Vetores de regressão e VIP para as subclasses (A) Metilona, (B) Etilona e (C) PV-8	79
Figura 5.1 – Espectros ATR-FTIR das amostras originais de citrato de sildenafil	87
Figura 5.2 – Espectros ATR-FTIR das amostras suspeitas de citrato de sildenafil	87

Figura 5.3 – Escores em PC1 e PC2 no modelo PCA para classe “original”.....	88
Figura 5.4 – Pesos em (a) PC1 e (b) PC2 no modelo PCA para a “classe original”	89
Figura 5.5 – Espectros ATR-FTIR de referência de sildenafil, celulose, fosfato de cálcio dibásico, carmelose, estearato de magnésio, lactose, dióxido de silício e povidona	90
Figura 5.5 (cont.) – Espectros ATR-FTIR de referência de sildenafil, celulose, fosfato de cálcio dibásico, carmelose, estearato de magnésio, lactose, dióxido de silício e povidona	91
Figura 5.6 - Escores em PC1 e PC2 no modelo PCA para classe “original”, com predição de amostras suspeitas.....	94
Figura 5.7 – Probabilidade, por amostra, de pertencimento à classe “original”	95
Figura 5.8 – Resíduos Q versus T ² de Hotelling do modelo PCA para a classe “original”. Gráfico completo à esquerda e ampliado à direita.	95

Lista de tabelas

Tabela 3.1 – Quantidades de amostras por classe nos conjuntos de treinamento e teste, para o modelo principal e o submodelo de NBOMe	35
Tabela 3.2 – Números de onda importantes e com valor positivo no vetor de regressão, para cada classe	49
Tabela 3.3 – Matriz de confusão de classificação do modelo principal para amostras de treinamento/teste.....	49
Tabela 3.4 – Figuras de mérito do modelo principal, em porcentagem, por classe, para conjuntos de treinamento e teste.....	50
Tabela 3.5 – Matriz de confusão de classificação do submodelo para amostras de treinamento/teste.....	54
Tabela 3.6 – Figuras de mérito do submodelo, em porcentagem, por subclasse, para conjuntos de treinamento e teste.	54
Tabela 4.1 – Quantidades de amostras por classe nos conjuntos de treinamento e teste, para o modelo principal e os submodelos MDs e Catinonas	62
Tabela 4.2 – Número de amostras que contém adulterantes e as drogas associadas a estes. ...	65
Tabela 4.3 – Figuras de mérito estimadas para o modelo principal PLS-DA, em porcentagem, para cada classe nos conjuntos de treinamento e teste	71
Tabela 4.4 – Números de onda mais discriminantes para modelagem de cada classe, indicados por VIP scores, e suas contribuições para os vetores de regressão.....	73
Tabela 5.1 – Relação de amostras com indicação de produtor, marca, nome e lotes.....	84
Tabela 5.2 – Principais excipientes descritos nas bulas dos medicamentos, por produtor.....	89
Tabela 5.3 – Figuras de mérito estimadas para o modelo SIMCA, em porcentagem, para cada classe nos conjuntos de teste	96

Lista de abreviaturas e siglas

2C-H	2,5-dimetoxifenetilamina
5-MeO-MIPT	5-metoxi-metil-isopropil-triptamina
ACO	Acordância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
α -PVP	α -Pirrolidinovalerofenona
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i> (Refletância Total Atenuada)
ATS	<i>Amphetamine type stimulant</i> (Estimulante tipo anfetamina)
β K	β -cetona
CON	Concordância
CVCE	<i>Cross-Validation Classification Error</i> (Erro de Classificação de validação cruzada)
DE	Disfunção erétil
FN	Falso-negativo
FOM	<i>Figure of Merit</i> (Figura de Mérito)
FP	Falso-positivo
FT	<i>Fourier Transform</i> (Transformada de Fourier)
IC-PCMG	Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Minas Gerais
iPDE5	Inibidor de fosfodiesterase tipo 5
IR	<i>Infrared</i> (Infravermelho)
LSD	<i>Lysergsäurediethylamid</i> (Lisérgida)
MAL	Metalilescalina
MD	Metilenodioxí
MDA	3,4-metilenodioxianfetamina
MDMA	3,4-metilenodioximetanfetamina
NBOMe	N-metoxi-benzila
NIR	<i>Near infrared</i> (infravermelho próximo)
NPS	<i>New Psychoactive Substances</i> (Novas substâncias psicoativas)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PC	<i>Principal component</i> (Componente principal)
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (Análise de Componentes Principais)
PLS	<i>Partial Least Squares</i> (Mínimos Quadrados Parciais)
PLS-DA	<i>Partial Least Squares Discriminant Analysis</i> (Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais)
PV-8	α -pirrolidinoheptiofenona, α -PHpP
SIMCA	<i>Soft Independent Modelling of Class Analogy</i> (Modelagem flexível e independente por analogia de classe)
SNV	<i>Standard Normal Variate</i> (Variação Normal Padrão)

SWGDRUG	<i>Scientific Working Group for Analysis of Seized Drugs</i> (Grupo de Trabalho Científico para Análise de Drogas Apreendidas)
TCF	Taxa de confiabilidade
TFN	Taxa de falso-negativo
TFP	Taxa de falso-positivo
TN	<i>True-negative</i> (Verdadeiro-negativo)
TP	<i>True-positive</i> (Verdadeiro-positivo)
TSL	Taxa de seletividade
TSN	Taxa de sensibilidade
UNODC	<i>United Nations Office on Drugs and Crime</i> (Escritório das Nações Unidas para Drogas e Crimes)
VIP	<i>Variable Importance in the Projection</i> (Importância de Variáveis na Projeção)
VL	Variável Latente

Sumário

Resumo	iii
Abstract.....	iv
Lista de figuras	v
Lista de tabelas	vii
Lista de abreviaturas e siglas	viii
1. Introdução.....	1
2. Revisão bibliográfica.....	2
2.1. Química forense.....	2
2.2. Drogas de abuso.....	3
2.2.1. Fenetilaminas	5
2.2.1.1. Catinonas	7
2.3. Medicamentos falsificados	9
2.4. Espectroscopia no Infravermelho	12
2.4.1. Espectrômetro no infravermelho por Transformada de Fourier com Refletância Total Atenuada – ATR-FTIR	15
2.5. Quimiometria.....	17
2.5.1. PLS-DA.....	19
2.5.2. SIMCA.....	23
2.5.3. Validação de métodos qualitativos	25
3. Classificação de drogas em selos	28
3.1. Introdução.....	28
3.2. Materiais e métodos.....	31
3.2.1. Equipamentos e programas	31
3.2.2. Amostras	32
3.2.3. Modelos quimiométricos	33
3.3. Resultados e discussões	36
3.3.1. Modelo preliminar - PCA	37
3.3.2. Modelo principal.....	39
3.3.3. Submodelo NBOMe.....	51
3.4. Conclusões.....	55
4. Classificação de drogas em comprimidos tipo ecstasy	57
4.1. Introdução.....	57
4.2. Materiais e métodos.....	59
4.2.1. Equipamentos e programas	59
4.2.2. Amostras	59

4.2.3.	Modelos quimiométricos	60
4.3.	Resultados.....	63
4.3.1.	Modelo preliminar PCA.....	65
4.3.2.	Modelo principal.....	68
4.3.3.	Submodelo de MDs.....	75
4.3.4.	Submodelo de cationas	77
4.4.	Conclusões.....	79
5.	Classificação de autenticidade de medicamentos: sildenafil.....	81
5.1.	Introdução.....	81
5.2.	Materiais e métodos.....	83
5.2.1.	Equipamentos e programas	83
5.2.2.	Amostras	84
5.2.3.	Modelos quimiométricos	85
5.3.	Resultados e discussão.....	87
5.3.1.	Treinamento do modelo SIMCA	87
5.3.2.	Predição de amostras suspeitas	94
5.4.	Conclusões.....	97
6.	Conclusões gerais	98
7.	Referências	100
	ANEXO – Estrutura química das moléculas estudadas.....	109

1. Introdução

A taxa de criminalidade em Minas Gerais esteve em ascensão nos anos de 2011-2012, mesmo com o crescimento dos investimentos em informação e inteligência, policiamento e defesa civil no estado¹. No relatório do Fórum Brasileiro de Segurança Pública de 2016, os índices de criminalidade em Minas Gerais diminuíram, mas o estado ainda se destacou pela elevada taxa de crimes relacionados ao tráfico de entorpecentes². Com o grande número de crimes, aumenta, também, o trabalho de perícia criminal. Assim, para atender a essa demanda, novos métodos de análise que permitam resultados rápidos são desejados. Para perícias de composição química, as técnicas de análise direta, como espectroscopia no infravermelho (IR) médio, aliadas à análise multivariada, possibilitam análises rápidas, com pouco ou nenhum preparo de amostras. Além de compatibilizar a frequência de análise, esse tipo de método fornece resultados objetivos, reduzindo a subjetividade do perito na avaliação de uma análise, por exemplo, na identificação de cores em testes colorimétricos.

Dessa forma, uma parceria com o Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Minas Gerais (IC-PCMG) possibilitou a realização dessa tese, cujo objetivo foi desenvolver métodos para análises forenses empregando espectroscopia no infravermelho e quimiometria.

Os métodos foram propostos para análise de três tipos de amostras que compõem grande parte da rotina de um laboratório de química forense: selos contendo drogas, comprimidos tipo *ecstasy* e medicamentos contendo o princípio ativo sildenafil.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Química forense³

O convívio em sociedade é sempre gerido por regras, sejam do direito formal ou dos costumes de uma comunidade. Eventualmente, essas regras podem ser transgredidas e disputas entre as partes podem se estabelecer. No direito moderno, um juiz arbitra a resolução do conflito, devendo ser imparcial e baseando-se nos fatos apresentados. Contudo, esses fatos devem ser comprovados materialmente, sempre que possível, para embasar a decisão do juiz.

A comprovação dos fatos, nos casos que envolvem crimes, cabe ao perito criminal, também chamado cientista forense. Esse profissional usa conhecimentos de diversas áreas da ciência para comprovar materialmente se há ligação entre um vestígio e um crime. Ou seja, ciência forense é a ciência que se presta ao fórum, ao tribunal. No Brasil, as ciências forenses são parte necessária ao processo penal, pois o Código de Processo Penal⁴ estabelece:

Art. 158. Quando a infração deixar vestígios, será indispensável o exame de corpo de delito, direto ou indireto, não podendo supri-lo a confissão do acusado.

Art. 159. O exame de corpo de delito e outras perícias serão realizados por perito oficial, portador de diploma de curso superior.

Dessa forma, a perícia deve sempre ser realizada (Art.158) por pessoa com conhecimento científico (Art.159).

A química é uma das principais divisões da ciência forense. O conhecimento químico é usado em diversas áreas da perícia, desde o local de crime até os laboratórios de criminalística. No local de crime, reagentes químicos ajudam a identificar marcas de sangue e impressões digitais latentes. Já nos laboratórios, diversos tipos de amostra podem ser analisados para a identificação, quantificação

ou qualificação de seus componentes usando um conjunto de técnicas analíticas modernas. Dentre as principais amostras analisadas pela química forense, podem-se citar as drogas ilícitas, medicamentos, explosivos, entre outras.

2.2. Drogas de abuso

O uso de drogas pelo homem é relatado há milênios, especialmente para efeitos medicinais. Contudo, algumas drogas possuem efeitos psicotrópicos, ou seja, agem no sistema nervoso central. Esses efeitos alteram o humor, a consciência, os pensamentos, os sentimentos e, conseqüentemente, o comportamento⁵. Drogas com esses efeitos são relatadas em diversas civilizações para uso em rituais religiosos. Podem-se citar o uso de cogumelos do gênero *Psylocybe*, que contém triptaminas, nos Andes⁶; do cacto peiote (*Lophophora williamsii*), que contém mescalina, no México⁶; da papoula (*Papaver somniferum*), que contém opioides, na Ásia e na região do mar Mediterrâneo⁷; e da ayahuasca (*Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*), que contém dimetiltriptamina, no Brasil⁸.

Nos últimos séculos, porém, os psicoativos passaram a ser usados de forma abusiva, o que tem causado problemas sociais. Por isso, em resposta aos problemas causados pelo abuso de drogas, vários países se mobilizaram para regular o uso de substâncias psicotrópicas. Assim, em 1971, foi assinada a Convenção para Substâncias Psicotrópicas, que direciona o controle internacional dessas drogas^{9;10}.

No Brasil, as substâncias químicas controladas, sejam restritas ou proscritas, são reguladas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da Portaria 344/98¹¹. Nesta Portaria, as substâncias são classificadas de acordo com a necessidade de seu controle, sendo consideradas restritas as substâncias que são

permitidas para finalidades específicas, como morfina em uso medicinal, e proscritas as substâncias que são proibidas. Grande parte das drogas de abuso consta na referida Portaria, nas listas de substâncias proscritas – Listas F1 e F2. Com as recentes inovações no tráfico de drogas de abuso, 21 substâncias foram adicionadas à Portaria 344/98 em fevereiro de 2014, passando a serem controladas no país, incluindo várias fenetilaminas¹². Essa atualização foi um marco para a regulação de novas drogas no país, devido ao grande número de novas substâncias psicoativas (NPS - *new psychoactive substances*) adicionadas, e foi seguida por outras 12 atualizações até março de 2016.

Contudo, o número de diferentes NPS que foi reportado ao Escritório das Nações Unidas para Drogas e Crimes (UNODC – *United Nation Office on Drug and Crime*) aumentou significativamente, chegando a 739 em 2016¹³. Assim, a inclusão de drogas na Portaria 344/98 de forma nominal não acompanhava a evolução do mercado de drogas ilícitas. Por isso, em maio de 2016, a ANVISA publicou a RDC nº 79/2016, em que foi adicionado à Portaria 344/98 o sistema genérico por classe estrutural de substâncias proscritas, a exemplo de outros países¹⁴.

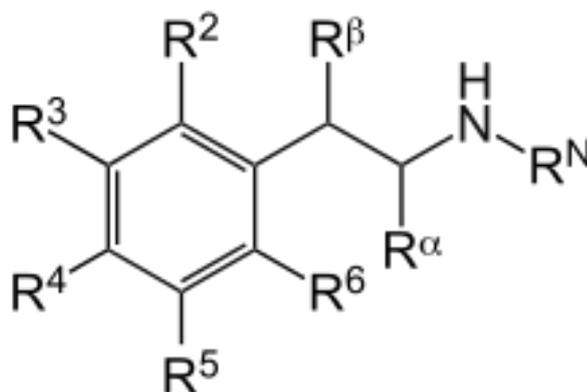
Na RDC nº 79/2016, 10 estruturas de canabinoides sintéticos foram incluídas como classes estruturais. Dessa forma, todas as substâncias pertencentes a essas classes estruturais devem ser consideradas proscritas, excetuando as substâncias que sejam explicitamente permitidas pela própria norma. Esse sistema possibilita que drogas ainda sem ocorrência no mercado possam ser previamente proibidas. Além das classes estruturais de canabinoides sintéticos, em 2017, a classe estrutural de catinonas sintéticas foi incluída na Portaria 344/98 pela RDC nº 175/2017. Outras 10 atualizações já foram feitas até dezembro de 2017, mas destaca-se que com a adição das classes estruturais de canabinoides e catinonas, a

lista de substâncias proscritas da ANVISA já passou a abranger mais de 51% dos NPS reportados à UNODC até 2016¹³.

2.2.1. Fenetilaminas

As fenetilaminas, ou feniletilaminas, são uma classe de substâncias compostas por um grupo fenila e um grupo amino ligados por dois carbonos (etil). Devido às diversas posições em que se podem fazer substituições no esqueleto dessas moléculas (Figura 2.1), as possibilidades de criação de novas fenetilaminas são diversas.

Figura 2.1 – Estrutura química das fenetilaminas



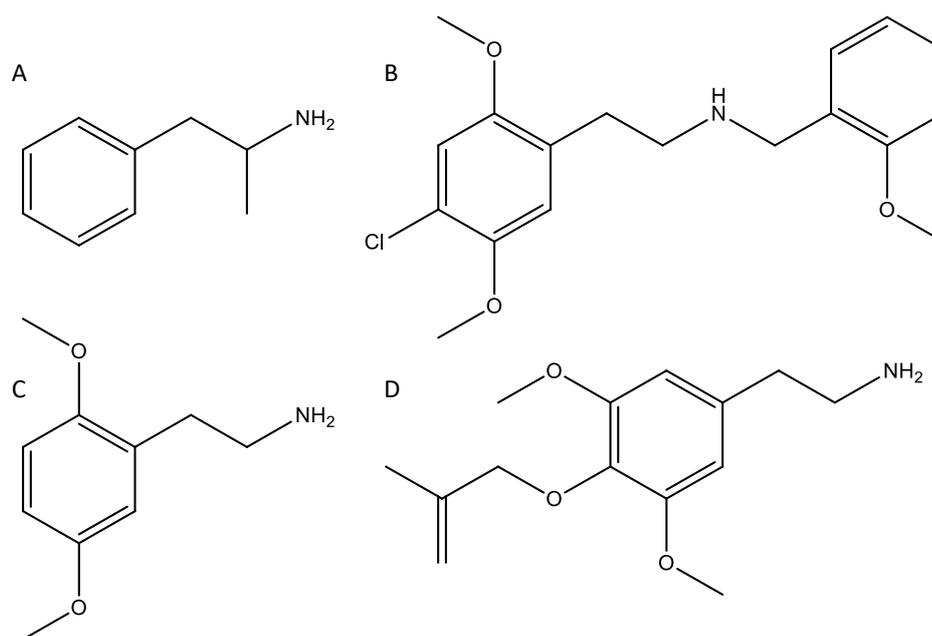
Existem fenetilaminas naturais, produzidas por plantas ou animais, as quais podem ser usadas, por exemplo, como medicamentos. Podem-se citar a feniletilamina, um neurotransmissor natural encontrado no cérebro e que pode ser suplementado para tratamento de déficit de atenção¹⁵, e a efedrina, encontrada nas plantas do gênero *ephedra*, que é utilizada como broncodilatador no tratamento das vias respiratórias¹⁶. Por outro lado, muitas fenetilaminas possuem efeitos psicotrópicos, como estimulante ou alucinógeno.

Muitas moléculas dessa classe tiveram sua síntese e seus efeitos psicotrópicos descritos por Alexander Shulgin e Ann Shulgin no livro *PiHKAL: A*

Chemical Love Story, em 1991^{17;18}. Muitas fenetilaminas não constam nas listas de regulação de entorpecentes, apesar de seus efeitos serem conhecidos, e outras só foram adicionadas recentemente a essas listas. Com isso, diversas dessas drogas foram vendidas legalmente para fins recreativos. Essas drogas são enquadradas na classe de NPS pelo UNODC, e seu consumo tem sido tratado como um problema de saúde pública¹³.

Dentre as fenetilaminas podem ser feitas classificações de acordo com os grupos ligados ao esqueleto principal da molécula. Uma classe bastante conhecida é a das anfetaminas, na qual se incluem anfetamina, metanfetamina, ecstasy (MDMA, 3,4-metilenodioximetanfetamina). Outra classe que tem sido comercializada ilegalmente é a classe dos NBOMe's. As estruturas das fenetilaminas anfetamina, 25C-NBOMe, 2,5-dimetoxifenetilamina (2C-H) e metililescalina (MAL) são apresentadas na Figura 2.2. Mais detalhes sobre essas drogas são apresentados no Capítulo 3.

Figura 2.2 – Estruturas químicas de: (A) anfetamina; (B) 25C-NBOMe; (C) 2C-H; e (D) MAL

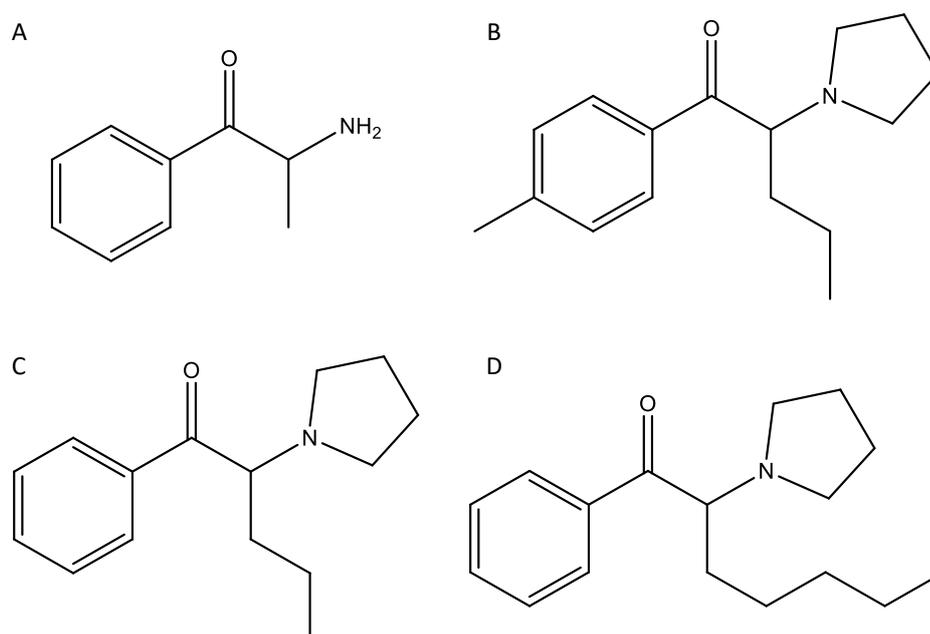


2.2.1.1. Catinonas

Dentro das fenetilaminas, um destaque especial deve ser dado às catinonas, pois essa é a segunda maior classe de NPS reportada ao UNODC, segundo o relatório anual de drogas do UNODC de 2017¹³.

As catinonas são uma classe de substâncias derivada da catinona (Figura 2.3A), um psicoestimulante encontrado no arbusto *Catha edulis*¹⁹. Pela sua estrutura, a catinona e seus derivados também são pertencentes à classe das fenetilaminas. Uma comparação entre as estruturas da catinona e da anfetamina mostra que a única diferença entre elas é a presença de uma carbonila no carbono β . Logo, algumas semelhanças históricas entre as duas classes ocorreram. Assim como algumas anfetaminas²⁰, catinonas como a efedrona, também tiveram uso medicinal, atuando no sistema nervoso central, no século XX. Contudo, o uso abusivo de efedrona na URSS e nos EUA levou à inclusão dessa droga na lista de substâncias controladas.

Figura 2.3 – Estruturas químicas de: (A) Catinona; (B) Pirovalerona; (C) α -PVP; e (D) PV-8



No início dos anos 2000, algumas catinonas passaram a ser comercializadas por seus efeitos psicotrópicos. Essas drogas ainda não eram reguladas e ilegais, sendo comercializadas como substâncias de “barato” legal (*legal high*). Além disso, essas drogas eram marcadas como não indicadas para consumo humano, para evitar fiscalização sanitária. Diversas variações de catinonas chegaram ao mercado nos anos seguintes¹⁸. Além da variedade de catinonas que têm sido reportadas, a quantidade de droga apreendida também está em pleno crescimento. Essas drogas começaram a ser monitoradas pelo UNODC em 2010, e só em 2014 suas apreensões já atingiram 1,3 toneladas. Esse valor é 3 vezes maior do que as apreensões ocorridas em 2013, segundo o relatório¹³.

Algumas das principais catinonas são baseadas nas estruturas de drogas já conhecidas e buscam mimetizar seus efeitos. Por exemplo, a efedrona tem a mesma estrutura química que a metanfetamina, diferindo apenas na presença da carbonila. O mesmo ocorre com a metilona e o MDMA. Por essa característica, a associação das drogas é feita também no nome. A referência à catinona vem da modificação estrutural: uma carbonila de cetona (*ketone*, em inglês) no carbono β , o que leva ao prefixo β K. Assim, a metilona também é chamada de β K-MDMA, por exemplo¹⁸.

Um dos principais grupos de catinonas é baseado na pirovalerona (Figura 2.3B). Essa catinona e seus derivados são caracterizados por um anel pirrolidino formado no nitrogênio presente na estrutura básica de catinonas. Além do anel, uma extensão da cadeia carbônica no carbono α faz parte desses compostos. Na estrutura da pirovalerona, substituições na posição 4 do anel aromático são comuns. Ao substituir esse grupo metil por um hidrogênio, a molécula recebe o nome de 1-fenil-2-(pirrolidin-1-il)pentan-1-ona (Figura 2.3C) ou α -

PyrrolidinoPentioPhenone, em inglês. Essa droga ficou conhecida como α -PVP, remetendo à pirrolidinovalerofenona²⁰.

Diversas drogas foram sintetizadas com estrutura similar à α -PVP. Pela alteração da cadeia carbônica no carbono α , tem-se uma série homóloga associada com o nome α -P_P, em que o espaço é preenchido de acordo com número de carbonos: α -PPP remete a um propil, cadeia de 3 carbonos, enquanto α -PHP remete a um hexil, cadeia de 6 carbonos. Destaca-se que algumas drogas ficaram conhecidas por outro nome, PV-_, que remete à pirovalerona. O número indicado nessa nomenclatura é a contagem de carbonos em cadeia linear, iniciada no anel aromático, com esse carbono incluso. Assim, a droga PV-8 (Figura 2.3D) é constituída por 7 carbonos lineares mais um carbono no anel fenílico. Outras variações das pirrolidinofenonas incluem substituições no anel aromático por halogênios, grupos alquilas, metoxilas ou ainda 3,4-metilenodioxí²¹.

2.3. Medicamentos falsificados

A falsificação de medicamentos é um problema sério de saúde pública em todo o mundo. A Organização Mundial da Saúde – OMS – estima que 10,5% de todos os medicamentos comercializados em países de baixa e média renda são falsificados ou fora de especificação (*substandard*). Esse panorama afeta principalmente os países da África que dependem de grande quantidade de medicamentos antimaláricos, os medicamentos mais falsificados no mundo²².

Os medicamentos fora de especificação são aqueles que são produtos autorizados para uso médico, mas que não cumprem com as necessárias determinações de especificação e controle de qualidade. Em geral, eles possuem o princípio ativo do medicamento, mas a dosagem ou o rigor na produção dos

produtos não é adequada ao controle de qualidade farmacêutico. Destaca-se também a existência de medicamentos que podem ser regulamentados em alguns países, mas não atender às especificações farmacêuticas em outros. Assim, esses medicamentos podem ser traficados de países em que possuem registro para países em que não são autorizados, constituindo crime.

Já para os medicamentos falsificados, o risco é ainda maior. O produto pode conter o princípio ativo em concentração diferente da indicada ou não conter o medicamento. Conseqüentemente, o tratamento com esse produto não apresentará os efeitos necessários. Além disso, o produto pode conter outro medicamento, não especificado, ou usar excipientes não adequados para consumo, que são potencialmente danosos à saúde.

Apesar dos riscos, os pacientes recorrem a esses produtos vendidos sem controle por diversos motivos: praticidade e conveniência da compra *online*, constrangimento em relatar sua condição a um médico quando uma receita médica é necessária, e preço menor pelo produto.

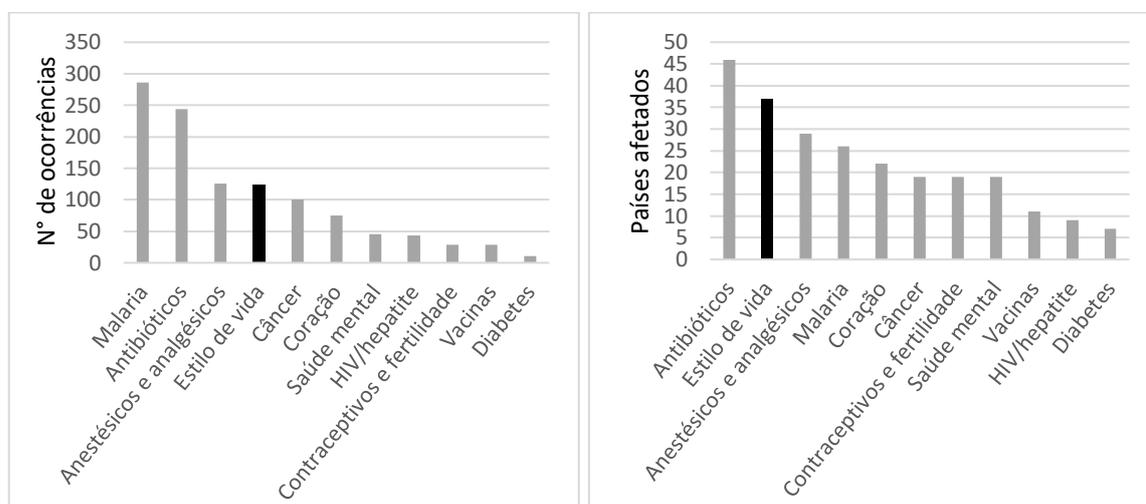
Um grande problema que tem potencializado a venda de medicamentos falsificados ou fora da especificação é a comercialização desses produtos na rede de computadores (*internet*). Em um levantamento feito em 2008 na Europa, 62% dos medicamentos vendidos pela *internet* eram falsos ou estavam fora da especificação. 93,8% das farmácias *online* eram ilegais, não tendo um farmacêutico registrado, e 90,3% dessas farmácias não requeriam receita médica para vender os produtos²³.

O empenho internacional no combate à venda de medicamentos ilegais é grande. A Operação Pangea, da Interpol, é dedicada exclusivamente a esse combate. Em 2017 ocorreu a sua décima edição, que contou com a participação de 123 países. Durante a semana em que ocorreu essa operação, foram apreendidos

25 milhões de medicamentos, que somaram valor estimado maior que 51 milhões de dólares. Entre os medicamentos apreendidos na operação, destacam-se suplementos alimentares, analgésicos, medicamentos para epilepsia, para disfunção erétil, antipsicóticos e produtos nutricionais²⁴.

Uma das classes de medicamentos que apresenta grande quantidade de ocorrências de produtos fora da especificação ou falsificados é nomeada “produtos para estilo de vida”. Destaca-se que ocorrências envolvendo produtos dessa classe foram reportadas à OMS por 37 países, indicando que a fraude desse tipo de produto não é local como no caso dos produtos antimaláricos. Os dados do relatório da OMS sobre falsificação são mostrados na Figura 2.4.

Figura 2.4 – Produtos fora do padrão e falsificados reportados (2013-2017) à OMS: Número de ocorrências (à esquerda) e número de países afetados (à direita) (Adaptado²²)



Os produtos para estilo de vida são medicamentos regulados para tratamentos de disfunção erétil (DE), de queda de cabelo, para emagrecimento e os anabolizantes²². Contudo, esses medicamentos também são usados por pessoas sem orientação médica para obter os efeitos do medicamento sem estarem doentes

e sem necessitarem desses tratamentos. Nesses casos, os compradores não possuem receita médica e buscam os medicamentos em comércios ilegais.

2.4. Espectroscopia no Infravermelho^{25;26}

A interação entre a radiação eletromagnética e a matéria é um fenômeno de grande interesse para a sociedade e que tem sido bastante explorado em técnicas analíticas. Uma das técnicas que se baseia nesse fenômeno é a espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho²⁷.

A região do infravermelho é um intervalo do espectro da radiação eletromagnética que abrange os comprimentos de onda entre 780 nm a 1000 μm . Essa região do espectro eletromagnético, que possui comprimentos de onda imediatamente maiores que a luz visível, tem grande aplicação aos estudos químicos, pois essa faixa espectral possui energia da mesma ordem de grandeza que os modos vibracionais de ligações moleculares. A região espectral do infravermelho pode ser dividida em infravermelho próximo (780-2500 nm), médio (2,5-50 μm) e distante (50-1000 μm).

O infravermelho próximo foi a primeira região da radiação invisível a ser descoberta, por Frederick Willian Herschel em 1800²⁸. Porém, essa região foi pouco utilizada na época por ter pequena relevância no estudo de caracterização de moléculas. Por outro lado, o infravermelho médio foi bastante utilizado no século passado por possibilitar a elucidação estrutural de moléculas. Isso ocorreu, pois, sua energia é compatível com os modos fundamentais de vibração das ligações químicas e as ligações possuem modos de vibração com energias discretas, que podem ser explicadas por modelos de mecânica quântica. Assim, cada ligação tem

uma energia específica, permitindo identificar quando um dado grupo funcional está presente na substância analisada, por exemplo.

Um modelo que explica os níveis de energia é o oscilador harmônico quântico, que considera as massas dos átomos envolvidos na ligação e a força da mesma. A energia potencial E da ligação, de acordo com o modelo harmônico quântico, é:

$$E = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \text{Eq. 1}$$

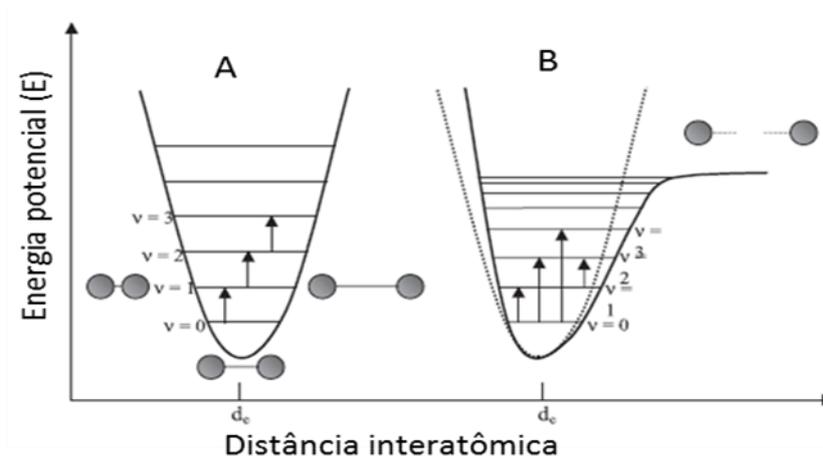
em que ν é o número quântico vibracional, inteiro e positivo, h é a constante de Planck, k é a constante de força da ligação e μ é a massa reduzida do sistema, calculada como:

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad \text{Eq. 2}$$

sendo m_1 a massa do átomo 1 e m_2 a massa do átomo 2.

Porém, o oscilador harmônico não descreve bem a energia de ligações para distâncias interatômicas muito pequenas ou muito grandes. Quando os átomos estão muito próximos, a repulsão coulômbica exerce uma força para afastar os átomos, aumentando a energia potencial do sistema. No outro contexto, quando os átomos estão muito distantes, a força de atração dos átomos diminui, levando à dissociação da ligação. Essas considerações levaram ao modelo do oscilador anarmônico. As energias potenciais dos modelos de oscilador harmônico e anarmônico podem ser vistas na Figura 2.7.

Figura 2.7 – Modelos quânticos de (A) oscilador harmônico e (B) oscilador anarmônico (adaptado²⁹)



Pelo estudo dos modos vibracionais de ligações, foram construídas tabelas que permitem a interpretação de espectros de infravermelho médio pela atribuição de bandas. Essas tabelas indicam as regiões em que ocorrem os estiramentos, simétricos e assimétricos, as deformações no plano, tesoura e balanço, e as deformações fora do plano, torção e abano, para cada grupo funcional.

Devido à sua alta capacidade de identificação espectral, a espectroscopia de infravermelho médio é considerada uma técnica classe A pelo Grupo de Trabalho Científico para Análise de Drogas Apreendidas (SWGDRUG – *Scientific Working Group for Analysis of Seized Drugs*)³⁰. Além de classificada como excelente, a espectroscopia de infravermelho é tida como a técnica de maior capacidade de discriminação para a análise de compostos puros, podendo discernir entre diastereoisômeros e também formas de sais, bases ou ácido de uma mesma substância³¹.

2.4.1. Espectrômetro no infravermelho por Transformada de Fourier com Refletância Total Atenuada – ATR-FTIR

A evolução instrumental proporcionou grandes avanços para a espectroscopia no infravermelho. Um dos grandes avanços foi o desenvolvimento de espectrômetros com Transformada de Fourier (FT – *Fourier Transform*). Esses instrumentos se fundamentam no efeito de interferência de ondas e produzem como resultado os interferogramas. Como a interferência depende do comprimento de onda, a separação dos comprimentos de onda por um monocromador, usada em instrumentos de IR dispersivos, é desnecessária, pois o próprio sinal de interferência traz informação sobre o comprimento de onda.

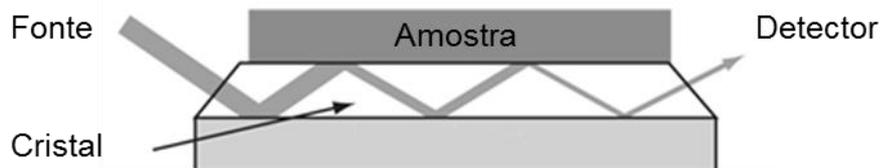
Contudo, o interferograma é um gráfico de intensidade em função do tempo. Por isso, o uso de transformada de Fourier é necessário para que o gráfico seja representado no domínio de frequência e possa ser interpretado, na forma de um espectro de infravermelho. O tempo necessário para registrar um interferograma é menor que um segundo, portanto, o ganho em tempo de aquisição do espectro é notável, além de propiciar uma melhor relação sinal/ruído pelo registro de dezenas de interferogramas sequenciais na mesma amostra.

Outro grande avanço na espectroscopia no infravermelho foi o uso de acessórios de refletância total atenuada (ATR – *attenuated total reflectance*) para a aquisição dos espectros. A reflexão total ocorre quando um feixe de radiação está se propagando em um material com alto índice de refração e é refletido na superfície desse meio. Porém, a reflexão não ocorre totalmente na superfície. Parte da radiação penetra no material que está em contato com essa superfície antes de ser refletido. A essa radiação é dado o nome de onda evanescente. Nesse material, a

onda evanescente pode ser absorvida nos comprimentos de onda específicos em que o material absorve e, assim, a radiação refletida terá sua intensidade atenuada nesses comprimentos de onda. Dessa forma, o registro dos comprimentos de onda em que a radiação foi atenuada forma o espectro de infravermelho.

Na prática, a intensidade da onda evanescente é muito pequena. Para tornar viável uma absorção significativa dessa radiação, os equipamentos de ATR-FTIR são feitos com um cristal de alto índice de refração, mais comumente, diamante, germânio ou ZnSe, posicionado com ângulos precisos de forma que o efeito de reflexão ocorra várias vezes ao longo do cristal. O efeito de ATR pode ser visualizado na Figura 2.8. Além disso, os módulos de ATR possuem uma prensa para compactar a amostra na interface do cristal, aumentando a quantidade de espécies absorventes na região da onda evanescente.

Figura 2.8 – Cristal ATR (adaptado³²)



Nesse tipo de equipamento, as amostras podem ter seu espectro medido diretamente, sem necessidade do preparo de pastilhas, como acontecia nos espectrômetros de infravermelho convencionais que predominavam até o final do século passado. Isso faz com que o equipamento seja mais prático e versátil, podendo ser usado para analisar sólidos e líquidos. Dessa forma, as análises são mais rápidas e têm menor custo, pois não há gasto de insumos para preparar a pastilha, além da possibilidade de realizar análises não destrutivas, como em amostras de papel. Além disso, destaca-se que os espectros de reflectância, obtidos

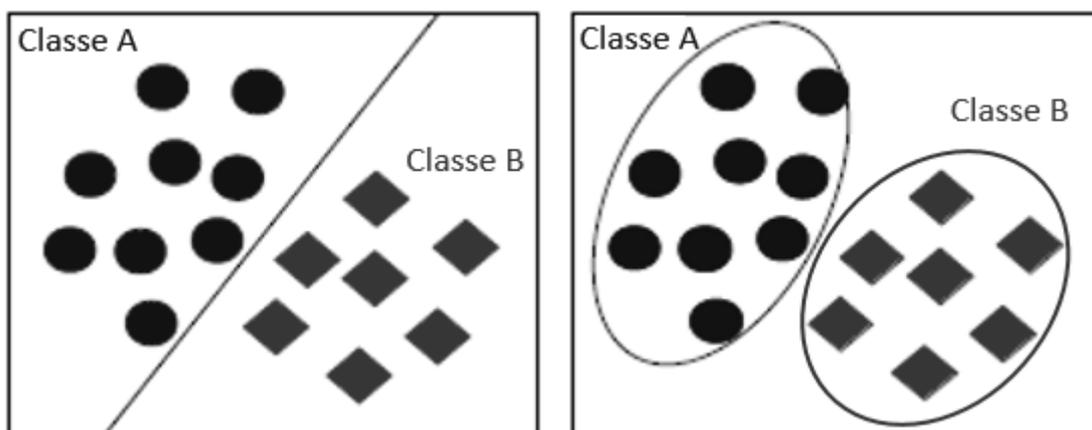
em equipamentos com ATR, apresentam grande correspondência com os espectros de transmitância obtidos com pastilhas. Isso possibilita a comparação espectral e uso de bibliotecas, independentemente do tipo de equipamento IV utilizado.

2.5. Quimiometria³³

A quimiometria é uma disciplina que faz uso de matemática, estatística multivariada e sistemas computacionais para a resolução de problemas químicos³⁴. Uma das aplicações da quimiometria é na exploração de padrões de informação relevantes presentes em um grande conjunto de dados, mas não perceptíveis sem o uso da análise multivariada. Esse é o principal objetivo da análise de componentes principais (PCA – *principal component analysis*). Nesta técnica, os dados originais, e.g. espectros, são decompostos em outro sistema de coordenadas não correlacionadas, ou seja, ortogonais, com finalidade de reduzir a dimensão espacial, destacando as informações de maior variância.

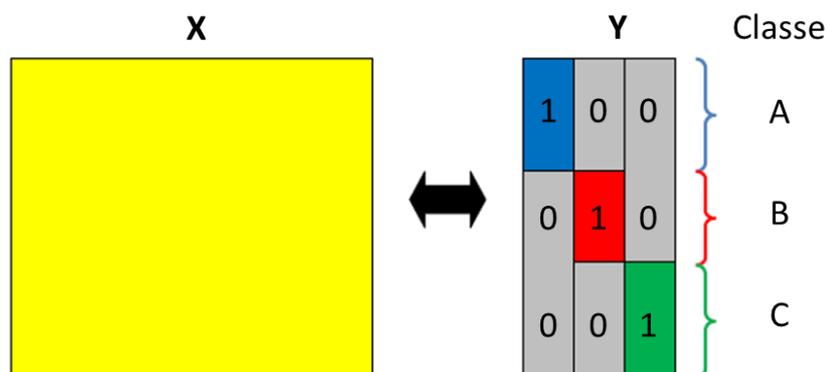
Os métodos de análise exploratória, como a PCA, permitem a interpretação dos dados pela redução de sua dimensionalidade e possível visualização de padrões das relações entre as amostras em gráficos de escores de componentes principais (PC – *principal component*). Porém, estes métodos são não supervisionados, isto é, não possuem uma etapa de calibração/treinamento do modelo. Dessa forma, não é possível fazer inferências objetivas sobre os dados. Para contrapor essa incapacidade dos métodos não supervisionados, desenvolveram-se os métodos de classificação supervisionada. Os métodos de classificação supervisionada podem ser separados em métodos de análise discriminante e em métodos de modelagem de classe³⁵. A Figura 2.5 ilustra a forma de classificação destes dois tipos de métodos.

Figura 2.5 – Sistema de classificação para análise discriminante (à esquerda) e modelagem de classe (à direita) (adaptado³⁶)



Um importante parâmetro das análises supervisionadas é referente à ordem dos dados das variáveis dependentes (Y). Muitas vezes, a classificação supervisionada se baseia na separação binária, por exemplo, se uma amostra contém ou não um dado analítico. Assim, apenas uma classificação é feita e é dito que se trata de uma análise de ordem um. Já para a análise classificatória de ordem dois, há a possibilidade de previsão de mais de duas classes simultaneamente e a discriminação deixa de ser binária. Dessa forma, uma amostra pode pertencer, por exemplo, à classe A, B ou C, podendo ainda pertencer a mais de uma classe simultaneamente ou a nenhuma classe. Uma forma de organizar a informação de classes matematicamente é atribuir um valor a cada amostra, por exemplo, 1 a amostras pertencentes a uma classe e 0 a amostras não pertencentes a essa classe. Uma forma de organizar a matriz Y é ilustrada na Figura 2.6.

Figura 2.6 – Organização da matriz **Y** para um modelo de ordem dois (adaptado³⁷)



2.5.1. PLS-DA

Nos métodos de análise discriminante, as variáveis independentes (sinais analíticos, no bloco **X**) são correlacionadas com o espaço das variáveis dependentes (valores de referência/variáveis categóricas, no bloco **Y**), que contêm as informações objetivas, ou de atribuição de classe, das amostras.

Existem diferentes métodos para análise discriminante. Um dos mais importantes, devido ao seu uso ser bastante difundido nos últimos anos, é a análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA – *partial least squares discriminant analysis*). Esse método se baseia no modelo de calibração multivariada PLS, no qual se faz a decomposição simultânea dos espaços **X** e **Y**. Como consequência da decomposição simultânea, ocorre uma pequena perda de ortogonalidade em relação à decomposição por PCA. Assim, o novo sistema de coordenadas é formado pelas denominadas variáveis latentes (VL).

Para a decomposição, a matriz **X** $n \times p$, composta por n amostras e p variáveis, e a matriz **Y** $n \times k$, composta por n amostras e k respostas analíticas, são decompostas em uma soma de A variáveis latentes. Neste momento, destaca-se a variação de k . Em casos mais simples, k é igual a um e **y** é um vetor, o que

representa apenas uma resposta analítica a ser calibrada (PLS1) ou uma classificação binária em uma classe (PLS1-DA). Já quando há mais de uma resposta analítica, ou mais de uma classe para a análise discriminante, tem-se que k é maior que um, fazendo com que \mathbf{Y} seja uma matriz. Devido à dimensão de \mathbf{Y} , os métodos passam a ser chamados PLS2 e PLS2-DA, respectivamente.

A decomposição é feita segundo as equações 3 e 4.

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} = \sum \mathbf{t}_A \mathbf{p}'_A + \mathbf{E} \quad \text{Eq. 3}$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}' + \mathbf{F} = \sum \mathbf{u}_A \mathbf{q}'_A + \mathbf{F} \quad \text{Eq. 4}$$

em que \mathbf{T} e \mathbf{U} são as matrizes de escores das matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente, \mathbf{P} e \mathbf{Q} são as matrizes de pesos (*loadings*) de \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente, e \mathbf{E} e \mathbf{F} são os resíduos de \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente. O vetor de coeficientes de regressão linear \mathbf{b} correlaciona os blocos \mathbf{X} e \mathbf{Y} de forma linear, para A variáveis latentes, de acordo com a equação 5.

$$\mathbf{u}_A = \mathbf{b}_A \mathbf{t}_A \quad \text{Eq. 5}$$

Os valores de \mathbf{b}_A são agrupados na matriz diagonal \mathbf{B} , que contém os coeficientes de regressão entre as matrizes de escores \mathbf{T} de \mathbf{X} e \mathbf{U} de \mathbf{Y} . A melhor relação linear possível entre os escores desses dois blocos é obtida por meio de pequenas rotações das variáveis latentes dos blocos de \mathbf{X} e \mathbf{Y} . Os valores previstos para novas amostras ($\hat{\mathbf{Y}}$) podem ser então calculados de acordo com a equação 6, com base nos novos escores \mathbf{T}^* .

$$\hat{\mathbf{Y}} = \mathbf{T}^* \mathbf{BQ} \quad \text{Eq. 6}$$

O número de variáveis latentes é de grande importância, pois altera a quantidade de informação que será modelada. Se o número de VL for muito pequeno, ocorre o subajuste e o modelo não é capaz de explicar toda informação

sistemática dos dados, apresentando má capacidade preditiva. No caso oposto, modelando um número de VL muito grande, ocorre o sobreajuste e parte da informação aleatória, e.g. ruído instrumental, é incorporada ao modelo. Isso faz com que os resultados da calibração sejam supermodelados apresentando erros de previsão não realistas, e, portanto, incompatíveis com a capacidade de previsão para novas amostras independentes. Dessa forma, o número de VL é escolhido em um procedimento de validação cruzada, baseado em processos de reamostragem, buscando o menor erro para amostras externas ao modelo previstas durante esta etapa. Um parâmetro que pode ser usado para avaliar esse erro nos métodos de classificação supervisionada é o erro de classificação de calibração cruzada (CVCE – *cross-validation classification error*), que pode ser avaliado individualmente para cada classe ou como uma média para um modelo multiclasse.

Para o funcionamento das operações matemáticas, as identificações de classes precisam ser transformadas em números. De forma usual, atribui-se o valor 1 para as amostras pertencentes à classe de interesse e o valor 0 para as amostras não pertencentes a essa classe. Por fim, um valor de corte é definido para separar os valores de previsão que são considerados pertencentes à classe. Esse valor é chamado de limite de corte ou limiar (*threshold*). De forma simples, pode-se definir um valor arbitrário para esse limite, por exemplo, 0,5. Assim, os valores de y maiores que 0,5 são considerados 1, pertencentes à classe, e os valores de y menores que 0,5 são considerados 0, não pertencentes à classe. Contudo, Brereton e Lloyd descreveram alguns erros comuns na definição do limiar para métodos qualitativos³⁷. Uma forma de atribuir esse limite é usar estatística Bayesiana.

O teorema de Bayes usa informações prévias de probabilidade para definir a probabilidade de eventos futuros. Para apresentar essa teoria, considere que todas as amostras (eventos) são pertencentes à classe 1 ou à classe 0. Assim:

$$P(1|y) + P(0|y) = 1 \quad \text{Eq. 7}$$

Pelo teorema de Bayes, a probabilidade de um evento pertencer à classe A dado um valor de y é:

$$P(1|y) = \frac{P(y|1)*P(1)}{P(y|1)*P(1) + P(y|0)*P(0)} \quad \text{Eq. 8}$$

onde P(1) e P(0) são as probabilidades de ocorrência de eventos futuros pertencentes a 1 e 0, respectivamente. Se considerarmos que a probabilidade de observar, futuramente, um evento 1 é equivalente à quantidade de eventos 1 ocorridos a priori, ou seja, a probabilidade futura é semelhante à probabilidade dos eventos ocorridos, a equação pode ser simplificada para:

$$P(1|y) = \frac{P(y|1)}{P(y|1) + P(y|0)} \quad \text{Eq. 9}$$

E de forma complementar:

$$P(0|y) = \frac{P(y|0)}{P(y|0) + P(y|1)} \quad \text{Eq. 10}$$

Essas duas equações descrevem a distribuição de probabilidade para cada evento, 1 e 0, e se interceptam em um único valor em que P(1|y) e P(0|y) são iguais a 0,5. Dessa maneira, é possível calcular o valor de y para o qual as probabilidades de um evento pertencer às classes 1 e 0 são iguais, e esse valor de y é definido como o limite de corte bayesiano.

2.5.2. SIMCA

O método SIMCA – Modelagem flexível e independente por analogia de classe (*Soft Independent Modelling of Class Analogy*) – foi desenvolvido por Svante Wold em 1976³⁸. Nesse método de classificação supervisionada, usa-se o conceito de modelagem de classes. Diferentemente da análise discriminante, métodos de modelagem de classes identificam os padrões de informação da classe que será modelada, de maneira independente dos padrões de informação de conjuntos externos à essa classe. Assim, o modelo faz a atribuição de uma amostra: se ela pertence ou não pertence à classe modelada³⁶.

O SIMCA se beneficia dos dois conceitos que lhe dão nome. *Soft modelling*, ou modelagem flexível, permite que as classes se sobreponham, sem fazer distinção rígida entre elas. Assim, uma amostra pode pertencer a uma classe, a mais de uma classe ou a nenhuma das classes. Já a modelagem independente (*Independent modelling*) é uma característica ainda mais útil aos modelos quimiométricos. Por causa da modelagem independente, cada classe é modelada separadamente e não é influenciada por amostras de outras classes. Isso também é útil para atualização de modelos, pois pode-se incluir novas classes ao modelo SIMCA sem alterar as classes já modeladas.

No método SIMCA, essa modelagem é feita usando PCA. Um modelo PCA é feito para cada classe usando apenas amostras pertencentes à essa classe específica. Por fim, o modelo SIMCA compila os modelos PCA de cada classe para fazer as atribuições.

A construção dos modelos PCA é feita por decomposição da matriz **X** em escores **T** e pesos **P**, restando a matriz de resíduos **E** como descrito na equação 3 (página 20). Como o modelo PCA de cada classe é construído

independentemente, o número de PC para a modelagem de cada classe pode ser diferente, de forma a otimizar a classificação.

Para a classificação, o modelo SIMCA avalia os escores e os resíduos espectrais de cada amostra dentro da PCA para a classe modelada, sob um determinado limite de confiança. Assim, amostras que apresentem resíduos espectrais maiores do que o limite estimado ou que não se enquadrem no elipsoide de confiança das componentes principais são considerados como não pertencentes à classe modelada. Matematicamente, o método SIMCA calcula a distância de uma amostra ao centro da classe modelada, segundo a equação 11, onde d_i é a distância da amostra i à classe, Q refere-se aos resíduos espectrais e T^2 de Hotelling, que representa a influência de cada amostra na parte modelada dos dados, é calculado a partir da matriz de escores. $T^2_{95\%}$ e $Q_{95\%}$ são valores limites calculados para 95% de confiança³⁹.

$$d_i = \sqrt{\left(\frac{T^2}{T^2_{95\%}}\right)^2 + \left(\frac{Q}{Q_{95\%}}\right)^2} \quad \text{Eq. 11}$$

Discussões recentes têm ocorrido na literatura sobre as potenciais vantagens de métodos de modelagem de classe sobre métodos discriminantes quando aplicados a problemas de verificação de autenticidade de amostras^{35;40}. Como o SIMCA modela apenas as amostras da classe de interesse, não é necessário ter amostras que representem as situações externas a essa classe. Na prática, o universo de amostras não autênticas é virtualmente infinito, logo não é possível ter amostras que representem todas as situações possíveis. Dessa forma, modelos de análise discriminante aplicados na verificação de autenticidade, sendo locais, são úteis apenas para classificar os tipos de amostra não autênticas que foram usados na fase de treinamento. Uma alternativa para contornar essa limitação em análises

discriminantes é o uso de uma robusta detecção de amostras anômalas^{41;42}. Por outro lado, os métodos de modelagem de classe não sofrem com essa limitação, pois todas as amostras que forem diferentes da classe modelada são não autênticas.

Contudo, deve-se ter cautela, pois uma amostra autêntica que não tenha seu padrão de informação modelado, também será classificada como não autêntica. Logo, a classe modelada deve conter o máximo de padrões de informação possíveis, abrangendo as diversidades que possam compor a classe de amostras autênticas. Nesse aspecto, destaca-se a possibilidade de diferentes marcas de um mesmo produto, que devem ser incorporados na classe modelada sempre que possível.

2.5.3. Validação de métodos qualitativos⁴³⁻⁴⁶

Um dos motivos para se usar métodos de classificação supervisionada, em detrimento da análise exploratória, é que se tratam de métodos com resultados objetivos e probabilidades associadas a esses resultados. Com isso, esses métodos podem ter sua confiabilidade atestada em um processo de validação. As figuras de mérito (FOM – *figures of merit*) mais usuais para a validação de métodos qualitativos são as taxas de falso-positivo e falso-negativo. Além dessas, existem outras figuras de mérito, como taxa de sensibilidade, taxa de seletividade e acordância.

Um resultado é denominado falso-positivo (FP) quando uma amostra não pertencente a uma classe é classificada como pertencente a esta pelo método, e, complementarmente, um resultado é denominado verdadeiro-negativo (TN – *true-negative*) quando uma amostra não pertencente à classe é corretamente classificada como não pertencente a esta. A taxa de falso-positivo (TFP) é definida pela

quantidade de amostras FP em relação à quantidade total de amostras que não pertencem à classe.

Da mesma forma, um resultado é denominado falso-negativo (FN) quando uma amostra pertencente a uma classe é classificada como não pertencente a esta, e, complementarmente, um resultado é denominado verdadeiro-positivo (TP – *true-positive*) quando uma amostra pertencente à classe é corretamente classificada como pertencente a esta. A taxa de falso-negativo (TFN) é definida pela quantidade de amostras FN em relação à quantidade total de amostras que pertencem à classe.

A TFP e TFN são consideradas figuras de mérito relacionadas à veracidade do método. Outra FOM usada para expressar a veracidade de métodos qualitativos é a taxa de confiabilidade (TCF), definida como a diferença entre o total de análises e as taxas de resultados falsos, TFP e TFN. Essas FOM são descritas pelas equações 12 a 14.

$$TFP = \frac{FP}{FP+TN} * 100\% \quad \text{Eq. 12}$$

$$TFN = \frac{FN}{FN+TP} * 100\% \quad \text{Eq. 13}$$

$$TCF = 100\% - (TFP + TFN) \quad \text{Eq. 14}$$

De forma análoga às TFP e TFN, a taxa de sensibilidade (TSN) é definida pela razão entre TP e todas as amostras pertencentes à classe, e a taxa de seletividade (TSL, também chamada de especificidade) é definida pela razão entre TN e todas as amostras não pertencentes à classe. Essas FOM são consideradas parâmetros de incerteza, diferentemente das TFP e TFN. A TSN e TSL são descritas nas equações 15 e 16.

$$TSN = \frac{TP}{TP+FN} * 100\% \quad \text{Eq. 15}$$

$$TSL = \frac{TN}{TN+FP} * 100\%$$

Eq. 16

Uma FOM importante para a validação de um método é sua precisão. Para métodos qualitativos, a precisão é calculada como a probabilidade de amostras idênticas apresentarem o mesmo resultado frente ao método, ou seja, positivo-positivo ou negativo-negativo. Em condições de repetitividade, essa FOM é chamada acordância (ACO) e em condições de precisão intermediária ou reprodutividade, denomina-se concordância (CON)⁴⁷. A ACO e CON são descritas nas equações 17 e 18.

$$ACO = \frac{[k(k-1)+(n-k)(n-k-1)]}{n(n-1)} * 100\%$$

Eq. 17

$$CON = \frac{2k(k-nb)+nb(nb-1)-ACO[nb(n-1)]}{n^2b(b-1)} * 100\%$$

Eq. 18

onde n é o número de amostras por ensaio e k é o número de resultados concordantes em cada ensaio.

3. Classificação de drogas em selos

3.1. Introdução

O selo é uma forma de apresentação de drogas com grande apelo psicodélico. Usualmente, os selos são feitos de papel absorvente, por exemplo, mata-borrão, e apresentam estampas muito coloridas que remetem a culturas alternativas ou diretamente ao uso de drogas⁵. Uma cartela de selos apreendida é mostrada na Figura 3.1.

Figura 3.1 – Cartela de selos apreendida



Historicamente, o selo foi usado para comercializar a Lisérgida, ou dietilamida do ácido lisérgico (LSD - *Lysergsäurediethylamid*), uma droga sintética que produz forte efeito alucinógeno a partir de baixas doses. Seu uso foi bastante difundido durante a década de 1970, auge do movimento *hippie*⁵.

Ainda hoje, o LSD é comercializado na forma de selos. Porém, diversos casos têm sido reportados em que selos apreendidos continham alucinógenos da classe das fenetilaminas⁴⁸⁻⁵⁰. Essa mudança está causando diversos problemas, tanto para o sistema de saúde quanto para o sistema policial. No sistema de saúde, vários casos têm sido reportados de pessoas que procuram atendimento médico devido a

overdoses, mas que não são tratadas adequadamente por não saberem qual foi a droga ingerida. Já no sistema policial, muitas das novas drogas não estão relacionadas nas listas de substâncias proibidas e, quando estão, nem sempre possuem métodos de análise estabelecidos.

Entre as drogas que têm sido identificadas em amostras de selos estão os NBOMe's, cujo nome é uma referência ao substituinte 2-metoxi-benzila ligado ao nitrogênio. Essa classe de drogas contém substâncias consideradas potentes alucinógenos, mesmo em pequenas quantidades, o que permite que sejam usadas em selos absorventes⁴⁹. Atualmente, entre as drogas apreendidas na forma de selos em MG, as mais comuns são da classe de NBOMe's⁵¹.

Porém, com as mudanças nas listas de controle de drogas é esperado que as drogas traficadas atualmente, recentemente proibidas, sejam menos atraentes aos traficantes e apareçam outras substâncias psicoativas não controladas que, portanto, poderão ser vendidas legalmente⁵².

Um exemplo de droga não controlada que entrou recentemente no mercado é a metalilescalina (MAL). A primeira vez que essa droga foi reportada por apreensão policial foi em 2013 na Suécia⁵³, enquanto, no Brasil, selos contendo essa droga foram apreendidos em MG em 2014⁵¹. Até hoje (fevereiro/2018) a MAL não consta na lista de substâncias controladas do Brasil¹¹. Quanto à legislação internacional, apenas a Suécia considera a MAL como uma substância controlada⁵⁴.

Em laboratórios de análise forense, os selos são testados com o reagente de Ehrlich⁵. Esse reagente é utilizado em um teste colorimétrico para identificar grupos indol, o qual está presente no LSD. Contudo, a quantidade de LSD presente em selos é muito pequena, da ordem de 60 µg⁵⁵. Por isso, resultados falso-negativos são comuns. Além disso, para outras drogas que têm sido encontradas na forma de

selos, como os NBOMe's, ainda não existem testes colorimétricos específicos. Além disso, os ensaios colorimétricos não são considerados suficientes para conclusão de um laudo³⁰. Por isso, os métodos instrumentais são usados para analisar esse tipo de amostra. As principais técnicas descritas para esse tipo de análise são cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas (GC-MS, *Gas Chromatography Mass Spectrometry*) e cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massas (LC-MS, *Liquid Chromatography Mass Spectrometry*)^{49;55;56}. Esses métodos requerem uma etapa de extração e posterior filtração. A extração é comumente feita com metanol sob agitação durante 15 a 60 minutos.

Técnicas de análise direta já foram empregadas para análise de selos. Romão e colaboradores empregaram espectrometria de massas com ionização ambiente branda por *spray-sônico* (EASI-MS – *Easy Ambient Sonic-spray Ionization Mass Spectrometry*)⁵⁷, Kauppila e colaboradores usaram espectrometria de massas com fotoionização a pressão ambiente por dessorção (DAPPI-MS – *Desorption Ambient Pressure Photoionization Mass Spectrometry*)⁵⁸, Risoluti e colaboradores usaram espectroscopia no infravermelho próximo (NIR – *near infrared*)⁵⁹ e Coelho Neto usou ATR-FTIR⁵¹. Destaca-se, contudo, as vantagens da ATR-FTIR, que é mais barata que as técnicas que usam espectrometria de massas e proporciona sinal analítico mais seletivo e intenso que a espectroscopia NIR.

Apesar de ATR-FTIR já ter sido usada para análise de selos contendo drogas, o trabalho de Coelho Neto⁵¹, que analisou parte das mesmas amostras usadas nesse trabalho, focou em análise por equivalência espectral com busca em biblioteca e, brevemente, descreveu um método de análise discriminante. Contudo, nesse trabalho não foi desenvolvido um modelo robusto usando metodologia

sistemática para selecionar amostras, tampouco foram feitas a validação e caracterização espectral do modelo. Os métodos de classificação supervisionada são os mais apropriados para construir modelos robustos aplicados à discriminação de amostras forenses. Porém, eles devem ser usados com grande rigor multivariado, incluindo pré-processamento adequado dos dados, separação criteriosa de amostras para os conjuntos de treinamento e teste, validação do método por estimativa de FOM e correlação espectral dos vetores informativos com as amostras analisadas.

Nesse trabalho objetivou-se o desenvolvimento de um método rápido de análise direta para identificação de drogas em selos apreendidos usando ATR-FTIR e PLS-DA.

3.2. Materiais e métodos

3.2.1. Equipamentos e programas

Para realização das análises espectroscópicas, foi utilizado um espectrofotômetro de infravermelho médio com transformada de Fourier e acessório de refletância total atenuada (ATR-FTIR) Thermo Nicolet™ iZ10 com fonte EverGlo, detector DLaTGS e módulo ATR Smart Orbit de reflexão única com cristal de diamante, presente na Seção Técnica de Física e Química Legal do Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Minas Gerais (IC-PCMG).

Os dados foram obtidos no programa OMNIC 9.1.27 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) e tratados no programa MATLAB, versão 7.13 (The MathWorks, Natick, MA, EUA), usando o pacote PLS Toolbox, versão 6.7.1 (Eigenvector Technologies, Manson, WA, EUA), que contém as rotinas para métodos de classificação supervisionada.

As identificações espectrais foram feitas por comparação com os arquivos da biblioteca de espectros do programa OMNIC Specta™ 2.0, além da biblioteca gratuita do SWGDRUG⁶⁰.

3.2.2. Amostras

Nesta aplicação, 73 amostras de selos, referentes a 32 apreensões feitas entre 2014 e 2015 no estado de Minas Gerais e encaminhadas para análise pela Polícia Civil de Minas Gerais, foram usadas para desenvolvimento e validação do método. Cada amostra foi analisada pelos métodos de rotina do laboratório de perícia, por cromatografia, gasosa ou líquida, com detecção por espectrometria de massas. Os resultados contidos nos laudos periciais foram tomados como valores de referência para as identificações das substâncias presentes na amostra. Amostras em que foram identificadas mais de uma droga não foram usadas neste trabalho. Na tabela 3.1, na seção 3.2.3, é mostrada a quantidade de amostras referentes a cada droga estudada.

A fim de calibrar o modelo com papéis sem drogas, uma classe “papel” foi criada com sete tipos de papéis: Guardanapo, papel toalha, papel higiênico, papel filtro, envelope pardo, papelão e papel sulfite. Foram analisadas três amostras de cada tipo de papel, totalizando 21 amostras na classe “papel”. Os papéis que são muito finos foram dobrados a fim de terem aproximadamente a mesma espessura das amostras de selo.

Os espectros dos selos foram obtidos diretamente na face estampada do papel. Cada espectro corresponde à média de 16 varreduras, com resolução de 4 cm^{-1} , registrados de $400\text{ a }4000\text{ cm}^{-1}$. Um espectro branco foi registrado antes de

cada amostra, por protocolo do laboratório, para correção de fundo, evitando interferência atmosférica.

3.2.3. Modelos quimiométricos

Amostras sólidas constituídas de partículas com diferentes tamanhos, como o papel, causam espalhamento multiplicativo da radiação. Esse espalhamento reflete informações físicas da amostra, não contendo informação química. Portanto, para o objetivo desse trabalho, essa informação não é necessária, sendo corrigida pelo pré-processamento Variação Normal Padrão (SNV – *standard normal variate*)⁶¹.

Um modelo PCA foi feito, inicialmente, para observar a dispersão das amostras, com os dados centrados na média. Em seguida, para a construção dos modelos de PLS-DA, as amostras foram separadas por classes, sendo cada classe atribuída a uma droga, com exceção das amostras que continham drogas NBOMe, que foram agrupadas em uma única classe. As diferenças estruturais entre os NBOMe's são pequenas, alterando-se apenas o grupo substituinte na posição 4 do anel aromático dimetoxilado. Entre os NBOMe's encontrados nas amostras estão apenas os que possuem substituição pelos halogênios bromo (25B), cloro (25C) e iodo (25I), cujas estruturas estão ilustradas no Anexo. Assim, os espectros dessas substâncias são muito semelhantes e, dessa forma, um modelo PLS-DA preliminar, que será discutido na seção 3.3, não conseguiu distinguir as pequenas diferenças entre os espectros dessas substâncias em um espaço de grande variância, como o modelo construído com todas as classes.

A classe LSD foi separada em duas classes (LSD1 e LSD2), pois, as amostras apresentavam características distintas nos espectros, observadas no modelo PCA e na comparação espectral, as quais serão discutidas na seção 3.3.1.

Assim, foram feitos dois modelos hierárquicos de PLS2-DA: um modelo com todas as amostras separadas nas classes (NBOMe's, 2C-H, LSD1, LSD2, MAL e papel); e um submodelo para identificar os diferentes NBOMe's (25B-NBOMe, 25C-NBOMe e 25I-NBOMe). As estruturas químicas das drogas analisadas são mostradas no Anexo.

Brereton e Lloyd³⁷ discutiram as características de métodos de classificação em que as classes possuem diferentes quantidades de amostras. Segundo esses autores, centrar os dados na média não é adequado nessas condições, pois, a média terá maior peso da classe em que houver mais amostras. Dessa forma, o pré-processamento de centrar na média foi substituído por centrar no centroide das classes, no qual se calcula o espectro médio de cada classe e, em seguida, calcula-se o espectro médio dessas médias, dando pesos iguais a cada classe. Por fim, esse espectro médio ponderado é subtraído do espectro de cada amostra.

Em cada classe, dividiram-se as amostras nos conjuntos de treinamento e de teste. Para essa divisão foi utilizado o algoritmo de Kennard-Stone⁶² e considerou-se a proporção de 2/3 das amostras para treinamento e 1/3 para teste, de acordo com a norma ASTM E1665⁶³. Assim, os conjuntos de treinamento e de teste foram constituídos por 63 e 31 amostras, respectivamente. Da mesma forma, as 25 amostras de NBOMe foram separadas em 16 amostras para o conjunto de treinamento e 9 amostras para o conjunto de teste. A quantidade de amostras de cada classe em cada conjunto é apresentada na Tabela 3.1, para o modelo principal e o submodelo de NBOMe.

Tabela 3.1 – Quantidades de amostras por classe nos conjuntos de treinamento e teste, para o modelo principal e o submodelo de NBOMe

Classe	Total	Treinamento	Teste
<i>Modelo principal</i>			
NBOMe's	25	17	8
2C-H	9	6	3
LSD1	10	7	3
LSD2	9	6	3
MAL	20	13	7
Papel	21	14	7
<i>Submodelo NBOMe</i>			
25B-NBOMe	5	3	2
25C-NBOMe	8	5	3
25I-NBOMe	12	8	4

Para escolher o número de VL, usou-se validação cruzada por venezianas, com 10 divisões (*splits*), e ponderou-se entre o menor valor de erro de classificação de validação cruzada médio e um número excessivo de VL. Para o submodelo de NBOMe's foi usado o método de reamostragem *leave-one-out*, devido ao pequeno número de amostras.

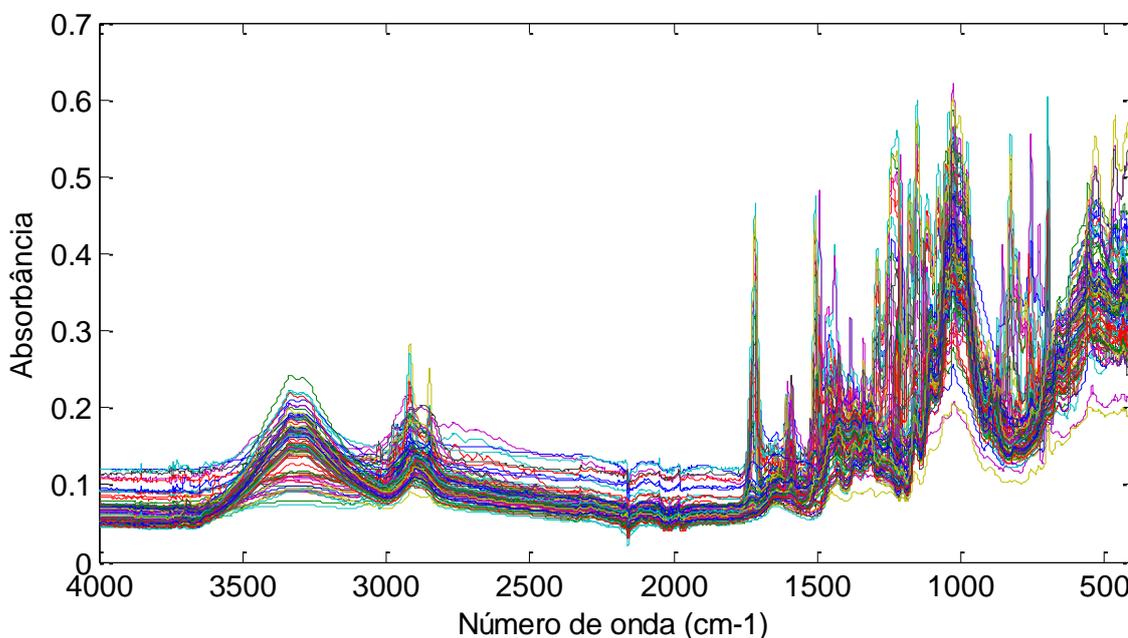
Os modelos foram avaliados pelas seguintes figuras de mérito, as quais foram calculadas separadamente para os conjuntos de treinamento e teste: taxas de falso-positivo e falso-negativo; taxas de sensibilidade e seletividade; e taxa de confiabilidade. Além dessas FOM, a acordância e a concordância foram avaliadas pela análise de uma amostra de cada classe. Para acordância, foram feitas 6 replicatas, em regime de repetitividade, e, para concordância, foram feitos dois ensaios em dias diferentes, por diferentes analistas, com 6 replicatas por dia, como forma de avaliação da precisão intermediária.

As FOM foram calculadas para cada classe e a média foi atribuída como representativa do modelo completo.

3.3. Resultados e discussões

Os espectros obtidos para todas as amostras, incluindo as amostras de papéis, são apresentados na Figura 3.2.

Figura 3.2 – Espectros de infravermelho médio das 73 amostras de selos apreendidos e das 21 amostras de papéis



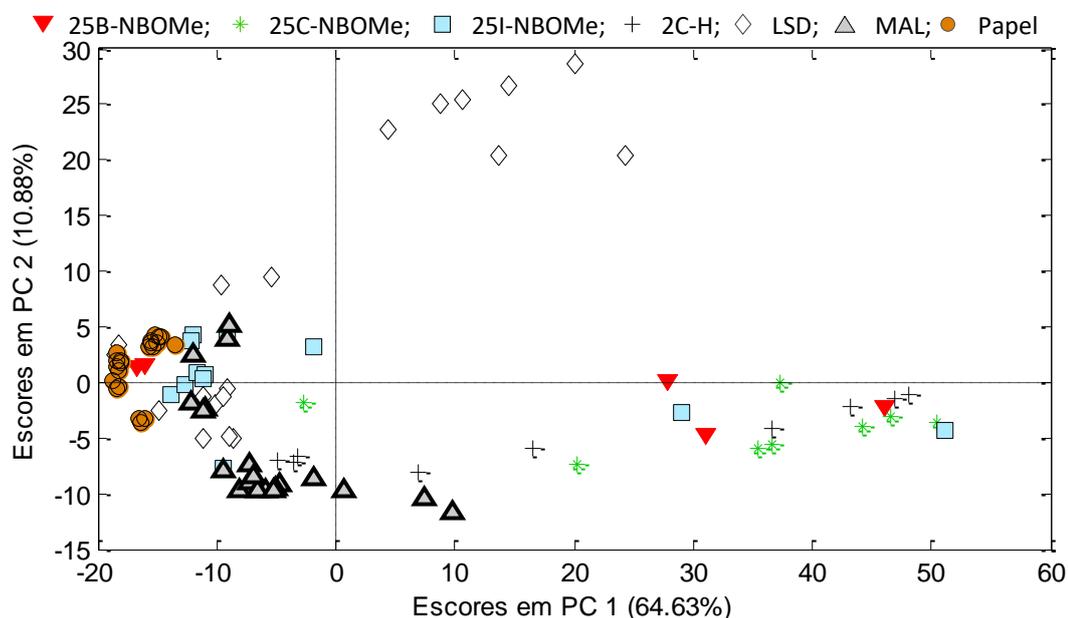
Um modelo PLS-DA preliminar foi feito e observou-se que as amostras de diferentes NBOMe's foram classificadas erroneamente, confundindo-se entre si. Assim, observou-se que a diferença espectral entre essas espécies é pequena se comparada à variância espectral do modelo, que contém diferentes classes de drogas. Por isso, optou-se por fazer um modelo principal no qual todos os NBOMe's compuseram uma única classe e um submodelo composto apenas por NBOMe's para discriminar os diferentes tipos de drogas dessa classe.

Ainda nesse modelo PLS-DA, observou-se que parte das amostras de LSD foi classificada corretamente com altos valores de y para esta classe, sendo, portanto, facilmente discriminadas. Porém, outra parte das amostras de LSD apresentou baixos valores de y para essa classe e foi classificada como pertencente à classe papel. Para elucidar essa diferença, um modelo de PCA e a comparação espectral com bibliotecas foram usados.

3.3.1. Modelo preliminar - PCA

Um modelo PCA foi testado para observar a dispersão das amostras de acordo com suas classes. O gráfico de escores nas componentes principais 1 e 2, que representa 75,51% da variância espectral, é apresentado na Figura 3.3.

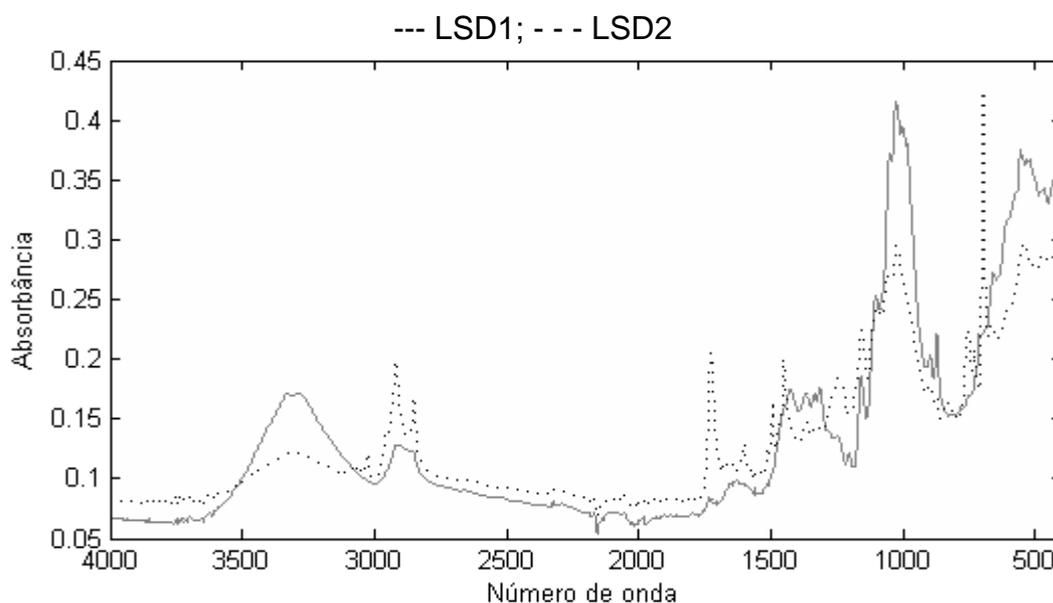
Figura 3.3 – Escores em PC1 *versus* escores em PC2.



Nesse gráfico, observa-se que as amostras da classe LSD se separam em duas regiões, uma em altos valores positivos de PC2, enquanto a outra está próxima ao eixo de PC2 com valores negativos de PC1. Pela consulta às bibliotecas espectrais do programa OMNIC, foi observado que as amostras que se separam em

altos valores positivos de PC2 possuem um copolímero que foi atribuído como Estireno-alil álcool ou ABS (acrilonitrila-butadieno-estireno). Assim, as amostras de LSD foram divididas em duas classes: LSD1, que não contém nenhum aditivo, e LSD2, que contém copolímero. Os espectros médios das classes LSD1 e LSD2 são apresentados na Figura 3.4.

Figura 3.4 – Espectros médios de LSD1 e LSD2



As maiores divergências entre os espectros das classes LSD1 e LSD2 são os picos em 698, 758, 1452, 1493 e 1601 cm^{-1} , e a banda com múltiplos picos entre 2800 e 3100 cm^{-1} . Todos esses picos foram identificados na comparação espectral com o espectro de referência do copolímero, que é apresentado na seção 3.3.2, na Figura 3.6. Porém, a banda em 1728 cm^{-1} , presente no espectro da classe LSD2, não é característica do polímero. Na identificação espectral de misturas usando bibliotecas espectrais, o espectro de LSD2 foi caracterizado como uma mistura entre o copolímero e cola adesiva para papel, sendo a banda em 1729 cm^{-1} observada no espectro da cola.

O LSD é uma droga cara e seu apelo como arte em selos (*blotter art*) pode levar a uma sofisticação na maneira que a droga é preparada para uso. O

copolímero encontrado nesse trabalho foi descrito na literatura como um componente usado em papéis para modificar sua molhabilidade e, conseqüentemente, melhorar a qualidade de impressão⁶⁴. Considerando que esse tipo de copolímero é usado para melhorar a fixação da tinta no papel, a mesma propriedade do polímero pode ser usada para ajustar a fixação da droga nos selos, e, conseqüentemente, a dose por selo. Porém, outros estudos, que não serão abordados nesse trabalho, devem ser feitos para suportar essa hipótese.

3.3.2. Modelo principal

O modelo principal foi construído usando 9 variáveis latentes e explicou 99,5% da variância de **X** e 64,1% da variância de **Y**. Apesar de poder parecer um número elevado de VL para modelos usuais, essa quantidade foi considerada adequada, pois, o modelo contém informação sobre 6 classes, sendo que uma dessas classes é composta por 3 diferentes drogas. Assim, entende-se que existem 8 diferentes fontes de informação para o modelo e, portanto, 9 VL torna-se um valor adequado.

A partir deste modelo, para cada amostra foi predito um valor de y em cada classe. Na Figura 3.5, os valores preditos de y são apresentados na forma de gráficos. Destaca-se que nas condições aplicadas ao modelo, não é possível que uma amostra pertença a mais de uma classe ou que não pertença a qualquer uma das classes. Dessa forma, para uma amostra que estiver numa dessas duas condições, considera-se que ela pertence à classe à qual houver maior probabilidade. Essa probabilidade é calculada para cada amostra usando a teoria de Bayes.

Figura 3.5 – Valores preditos de y para as classes (A) NBOMe, (B) 2C-H, (C) LSD1, (D) LSD2, (E) MAL e (F) papel

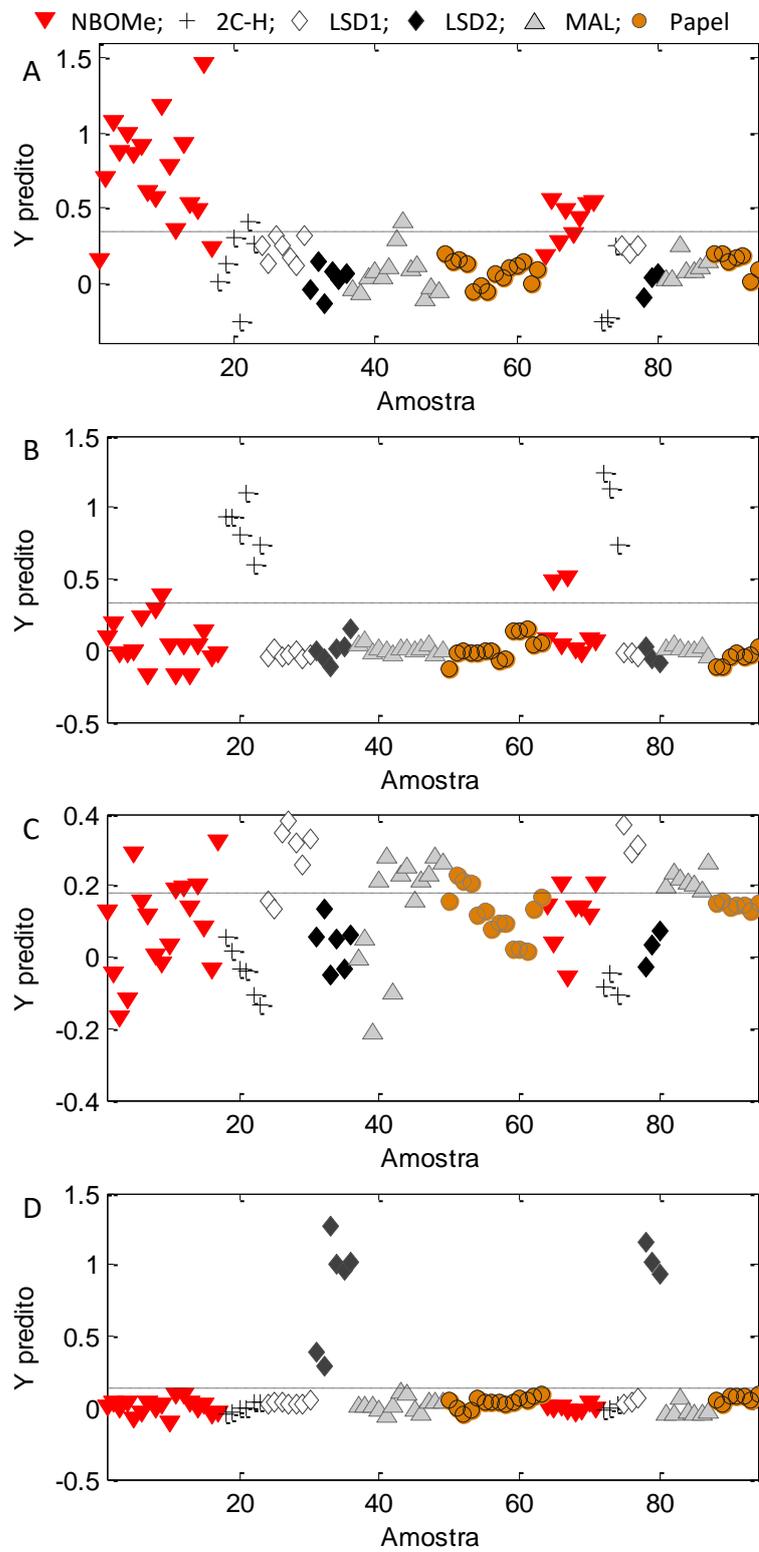
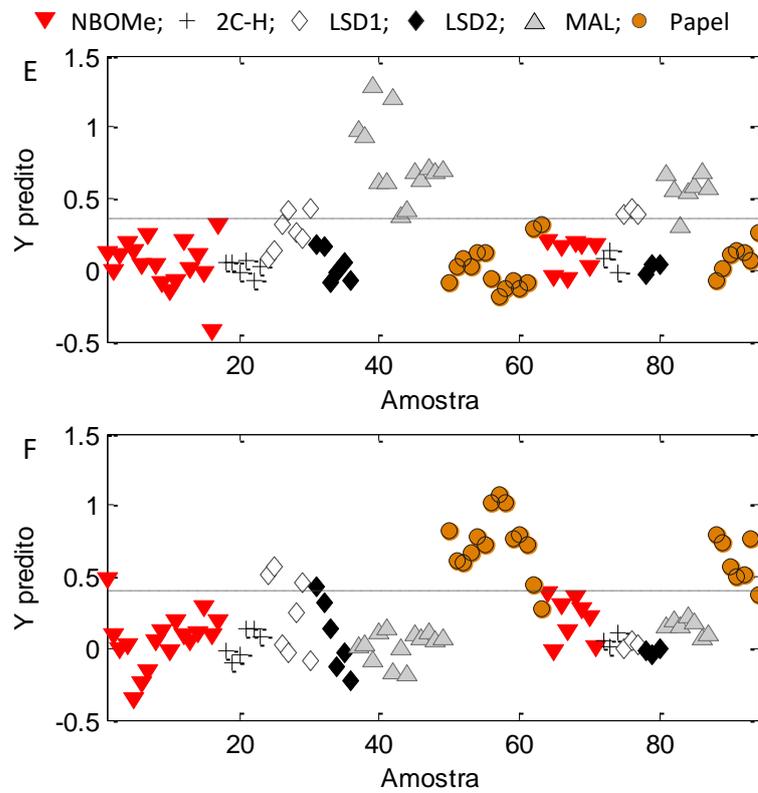


Figura 3.5 (cont.) – Valores preditos de y para as classes (A) NBOMe, (B) 2C-H, (C) LSD1, (D) LSD2, (E) MAL e (F) papel



Nos gráficos de valores preditos de Y, a linha tracejada representa o limiar, e, portanto, é usada para diferenciar as amostras entre pertencentes ou não à classe apresentada. Na seção 2.3.1, foi apresentado o teorema de Bayes, usado para calcular o valor limite de y para separar as amostras entre pertencente à classe ou não. No limiar, a probabilidade de uma amostra pertencer à classe é igual à probabilidade de não pertencer, ou seja, 50%. Em um mesmo gráfico, pode-se relacionar o valor de y à probabilidade da amostra pertencer à classe. Assim, às amostras mais distantes do limiar são classificadas com maior probabilidade de acerto.

Na Figura 3.5(C), que indica a classificação para LSD1, destaca-se que os valores de y são pequenos, mesmo para as amostras de treinamento da classe. Isso indica que a classe não foi bem modelada. Além disso, quase todas as amostras de

MAL foram classificadas como pertencentes à classe LSD1, assim como muitas amostras de NBOMe e algumas de papel.

A interpretação espectral do modelo é uma etapa importante para identificar quais regiões do espectro foram usadas para distinguir as amostras em cada classe. Usualmente, essa interpretação é feita usando os coeficientes de regressão do modelo. Outra ferramenta que tem sido usada é o vetor de importância de variáveis na projeção (VIP – *Variable Importance in the Projection*)⁶⁵. O vetor VIP, ou VIP scores, indica quais variáveis são mais importantes em módulo para a discriminação de uma classe. Pela análise de VIP scores, são consideradas significativamente importantes as variáveis que apresentarem valores maiores do que 1,0. A interpretação do vetor VIP juntamente aos coeficientes de regressão possibilita uma associação espectral mais confiável ao espectro de referência da classe.

Como espectro de referência de cada classe, foram usados os espectros de cada droga presentes nas bibliotecas espectrais do programa OMNIC. Para a classe NBOMe, por agrupar 3 drogas, foram usados como referência os espectros das 3 substâncias. Para as classes LSD2 e papel, que não foram identificadas pela presença de drogas, foram usados os espectros do copolímero estireno-alil álcool e do papel de impressão, respectivamente. A MAL é uma droga para a qual ainda não se tem registro de seu espectro de IR médio publicado em artigos científicos ou nas bibliotecas espectrais disponíveis. Assim, o espectro de referência foi registrado no laboratório a partir do extrato purificado de uma cartela de selos (5x5 selos), contendo MAL.

Os espectros de referência são mostrados na Figura 3.6 e os vetores de regressão e VIP para cada classe são mostrados na Figura 3.7.

Figura 3.6 – Espectros de referência das classes NBOMe (25B-NBOMe, 25C-NBOMe e 25I-NBOMe), 2C-H, LSD1, LSD2 (copolímero), MAL e papel

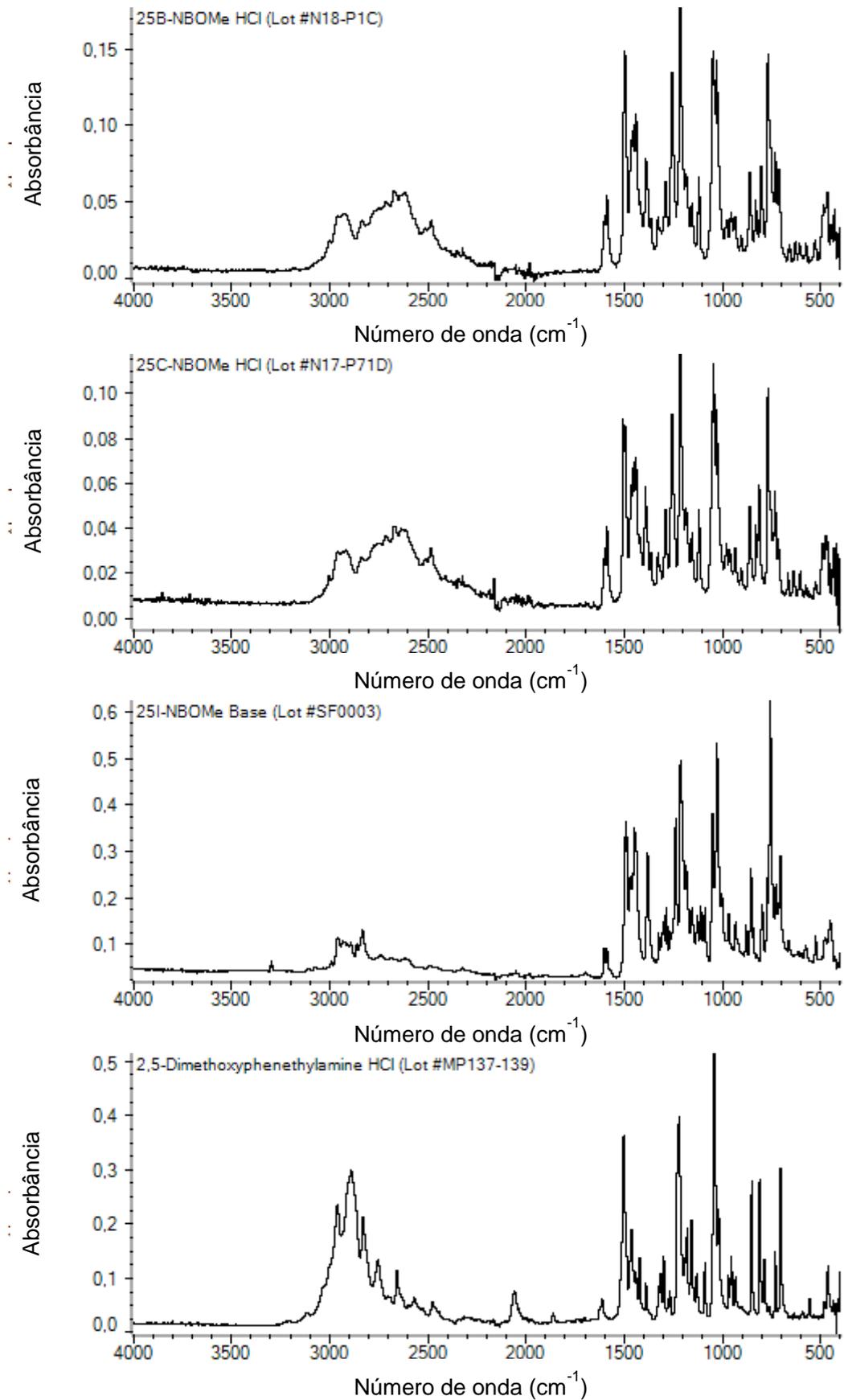


Figura 3.6 (cont.) – Espectros de referência das classes NBOMe (25B-NBOMe, 25C-NBOMe e 25I-NBOMe), 2C-H, LSD1, LSD2 (copolímero), MAL e papel

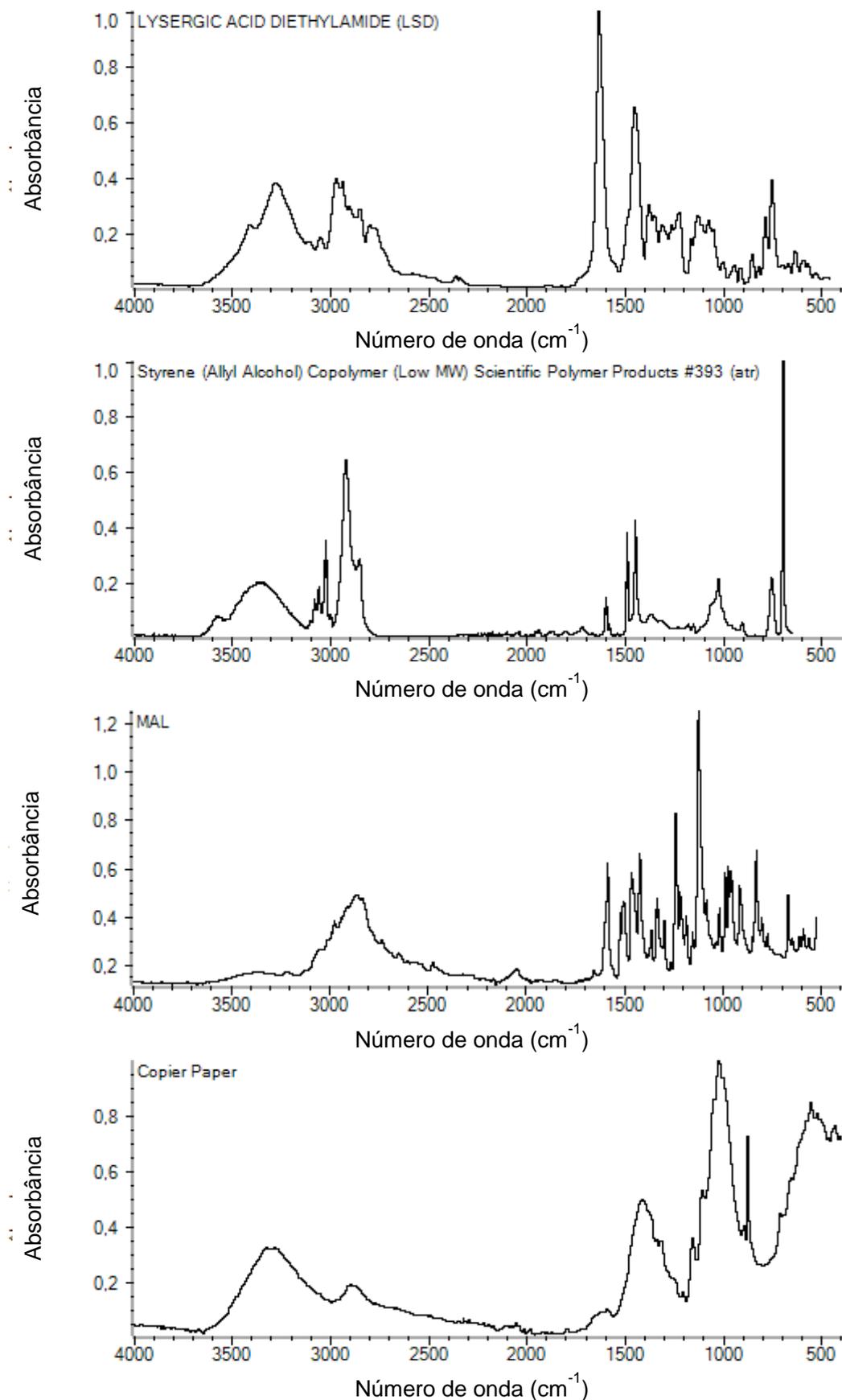


Figura 3.7 – Vetores de regressão (à esquerda) e VIP (à direita) para as classes (A) NBOMe, (B) 2C-H, (C) LSD1, (D) LSD2, (E) MAL e (F) papel

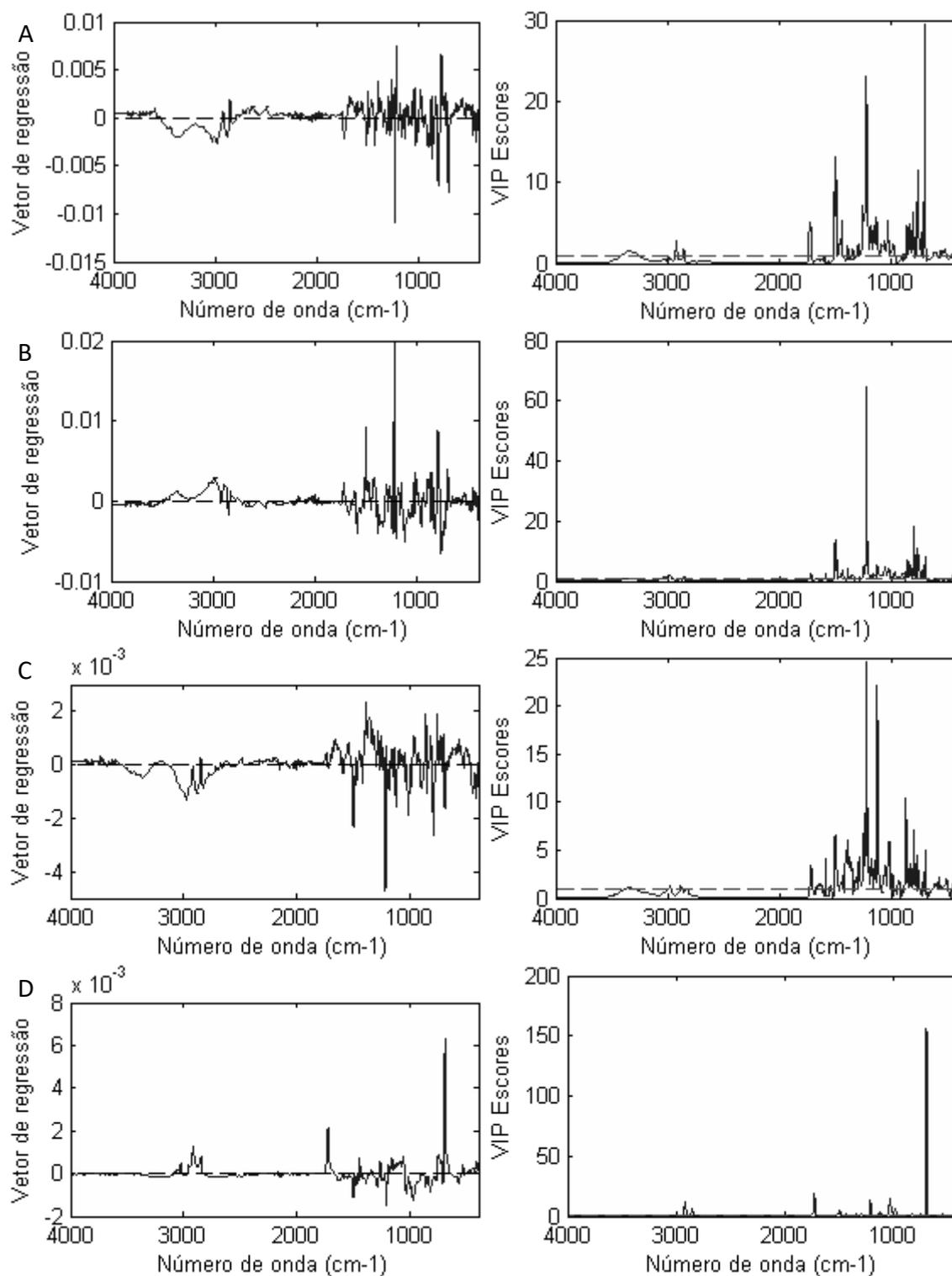
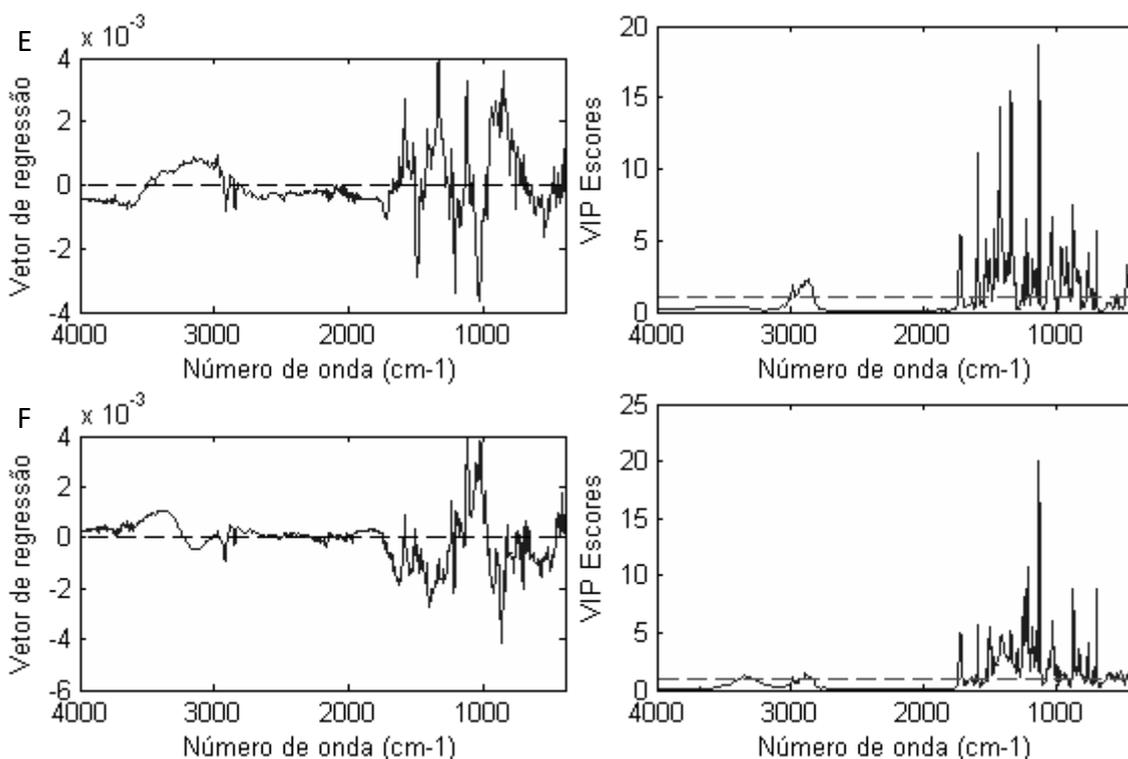


Figura 3.7(cont.) – Vetores de regressão (à esquerda) e VIP (à direita) para as classes (A) NBOMe, (B) 2C-H, (C) LSD1, (D) LSD2, (E) MAL e (F) papel



Nos gráficos de VIP scores, observa-se que a região de “impressão digital” (*fingerprint*) das moléculas, entre 1500 e 500 cm^{-1} , é importante para todas as classes. Nessa região, observam-se diferenças entre moléculas semelhantes, sendo que o espectro é quase específico para cada substância. A região com múltiplos picos entre 3000 e 2800 cm^{-1} também se mostrou importante para a discriminação de algumas classes.

Para a classe NBOMe, os números de onda de 1495, 1224, 1213, 756 e 697 cm^{-1} foram os mais importantes para a classificação, sendo que 1495, 1213 e 756 cm^{-1} apresentam coeficientes positivos no vetor de regressão, enquanto 697 e 1224 cm^{-1} possuem coeficientes negativos. Destaca-se que variáveis com coeficientes de regressão positivos contribuem diretamente para a atribuição a uma classe específica, enquanto variáveis com coeficientes negativos estão associadas aos interferentes oriundos de outras classes. Nos espectros dos 3 NBOMe's foram

identificados os picos em 1495 e 1213 cm^{-1} , atribuídos às vibrações C=C-C de compostos aromático⁶⁶ e C-O-C de aril-eter⁴⁹, respectivamente. Porém, o pico em 756 cm^{-1} é observado apenas no espectro de 25I-NBOMe e foi atribuído à deformação C-H aromático fora-do-plano. Nos espectros de 25B-NBOMe e 25C-NBOMe, este mesmo pico é ligeiramente deslocado, sendo presente no número de onda 766 cm^{-1} , porém com menor intensidade. Esse número de onda também é apontado como importante no gráfico de VIP scores, porém com menor importância que 776 cm^{-1} .

A Classe 2C-H foi predita principalmente pelos picos 1503, 1224 e 798 cm^{-1} , todos com contribuição positiva. Esses picos estão entre os mais intensos do espectro de referência de 2C-H e foram relacionados às mesmas vibrações apontadas para a classe NBOMe: C=C-C de aromáticos, C-O-C de aril éter e C-H de aromáticos fora-do-plano.

A classe LSD1, como discutido anteriormente, não foi bem modelada. A análise espectral interpretando os VIP scores e o vetor de regressão mostra que as variáveis mais importantes, 1224, 1213, 1130 cm^{-1} , são aquelas que apresentam contribuição negativa para essa classe. Uma variável que também foi importante, mas com contribuição positiva à predição dessa classe é a de número de onda 873 cm^{-1} . Porém, nenhuma das variáveis importantes ao modelo está presentes no espectro de referência de LSD. Isso significa que as amostras formaram essa classe apenas por serem diferentes das demais amostras, mas não possuem características espectrais específicas de LSD. Conclui-se, portanto, que o modelo não deve ser usado para prever LSD.

Para a classe LSD2, que discrimina as amostras de LSD que possuem o copolímero Estireno-Alil álcool, as variáveis que mais importaram à classificação

foram as de número de onda iguais a 698, 1030, 1213, 1728 cm^{-1} e a banda entre 2940 e 2840 cm^{-1} . Dessas variáveis, o pico de número de onda 698 cm^{-1} foi o de maior importância, com contribuição positiva à classe, e um dos picos característicos do copolímero, atribuído à deformação fora-do-plano de C-H aromático no estireno⁶⁷. Portanto, a classificação feita para a classe LSD2 é baseada nas características espectrais do copolímero, não podendo ser relacionada diretamente ao espectro da droga contida no selo. Como é possível que selos que contenham o polímero possam ser embebidos com outras drogas, não se deve afirmar que as amostras classificadas como LSD2 contenham LSD. No entanto, no universo de amostras apreendidas em MG e analisadas neste trabalho, apenas selos contendo LSD apresentaram este copolímero.

Para a classe MAL, os números de onda mais importantes foram 1590, 1424, 1340, 1213 e 1130 cm^{-1} , todos com contribuição positiva, presentes no espectro de referência de MAL. As variáveis 1590 e 1130 cm^{-1} foram associadas, respectivamente, a vibrações de deformação angular de N-H no plano e estiramento C-N de amins primárias. O pico em 1424 cm^{-1} foi atribuído à deformação no plano de ligação C-H e o pico em 1213 cm^{-1} foi relacionado à vibração C-O-C de éter aromático²⁶. Outros picos que foram importantes, mas que apresentaram valores negativos no vetor de regressão são os de número de onda iguais a 1494 cm^{-1} , que distingue NBOMe, e 1030 cm^{-1} , que distingue o copolímero de LSD2.

Para a classe papel, os picos importantes foram 873, 698, 1130, 1213 e 1244 cm^{-1} , sendo negativos os picos 873 e 1213 cm^{-1} , e positivos 1244 e 1130 cm^{-1} , ambos presentes no espectro de referência dessa classe, dentro de uma banda larga. O pico em 698 cm^{-1} , apesar de indicado como importante, apresenta valor de regressão próximo de zero, ligeiramente positivo, e não está presente no

espectro de referência de papel. Os picos em 1244 e 1130 cm^{-1} foram associados às vibrações de deformação angular no plano de C-H e estiramento C-O-C presentes na celulose²⁶.

As variáveis consideradas importantes pela análise dos VIP escores e, dentre estas, as que apresentam coeficientes de regressão positivos para cada classe estão listadas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Números de onda importantes e com valor positivo no vetor de regressão, para cada classe

Classe	Variáveis importantes (cm^{-1})	Variáveis importantes com regressão positiva (cm^{-1})
NBOMe	1495; 1224; 1213; 756; 697	1495; 1213; 756;
2C-H	1503; 1221; 798	1503, 1221 e 798
LSD1	1224; 1213; 1130; 873	873
LSD2	2940-2840; 1728; 1213; 1030; 698	698
MAL	1590, 1494; 1424; 1340; 1213; 1030; 1130,	1590, 1424, 1340, 1213, 1130
Papel	1213; 1130; 873; 698	1213; 1130

Para validar o método, as quantidades de amostras preditas em cada classe são apresentadas em forma de matriz de confusão, na Tabela 3.3, e os valores das FOM para cada classe são apresentados na Tabela 3.4.

Tabela 3.3 – Matriz de confusão de classificação do modelo principal para amostras de treinamento/teste

		Classe real					
		NBOMe	2C-H	LSD1	LSD2	MAL	Papel
Classe predita	NBOMe	14/4	0/0	0/0	0/0	1/0	0/0
	2C-H	0/2	6/3	0/0	0/0	0/0	0/0
	LSD1	2/1	0/0	5/3	0/0	1/1	1/0
	LSD2	0/0	0/0	0/0	6/3	0/0	0/0
	MAL	0/0	0/0	0/0	0/0	11/6	0/0
	Papel	1/1	0/0	2/0	0/0	0/0	13/7

Tabela 3.4 – Figuras de mérito do modelo principal, em porcentagem, por classe, para conjuntos de treinamento e teste.

Conjunto de treinamento (%)							
Classe	TFP	TFN	TCF	TSN	TSL		
NBOMe	2,2	17,6	80,2	82,4	97,8		
2C-H	0,0	0,0	100,0	100,0	100,0		
LSD1	7,1	28,6	64,3	71,4	92,9		
LSD2	0,0	0,0	100,0	100,0	100,0		
MAL	0,0	15,4	84,6	84,6	100,0		
Papel	6,1	7,1	86,7	92,9	93,9		
Média	2,6	2,6	86,0	88,5	97,4		
Conjunto de teste (%)							
Classe	TFP	TFN	TCF	TSN	TSL	ACO	CON
NBOMe	0,0	50,0	50,0	50,0	100,0	100,0	100,0
2C-H	7,1	0,0	92,9	100,0	92,9	100,0	100,0
LSD1	7,1	0,0	92,9	100,0	92,9	46,7	33,3
LSD2	0,0	0,0	100,0	100,0	100,0	100,0	83,3
MAL	0,0	14,3	85,7	85,7	100,0	100,0	100,0
Papel	4,2	0,0	95,8	100,0	95,8	100,0	100,0
Média	3,1	10,7	86,2	89,3	96,9	91,11	86,1

TFP – taxa de falso positivo; TFN – taxa de falso negativo; TCF – taxa de confiabilidade; TSN – taxa de sensibilidade; TSL – taxa de seletividade; ACO – acórdância; CON – concordância.

No modelo construído, foram preditas erroneamente apenas 8 amostras de treinamento e 5 de teste. Observou-se que a maior parte das amostras classificadas erroneamente é relacionada à classe LSD1, seja como falso-positivo ou falso-negativo. Novamente, ressalta-se que essa classe não foi bem modelada e sua taxa de confiabilidade, 64,3% no conjunto de treinamento, é baixa.

As amostras de LSD contêm apenas uma pequena quantidade de droga, em torno de 60 µg por selo e concentração média de aproximadamente 0,35% em massa⁵³. Assim, esperava-se que as amostras de LSD pudessem ser confundidas

com amostras de papel. Isso foi observado nos resultados falso-negativos dessa classe. Duas amostras de NBOMe também foram classificadas como papel, ambas são amostras de 25B-NBOMe. Supõe-se que essas amostras também devam ter baixa concentração da droga. Pelo mesmo motivo, amostras de NBOMe e MAL foram previstas como LSD1.

Para métodos preliminares de análises forenses, resultados falso-negativos são indesejados, pois podem dispensar a análise da amostra pelos método de referência, comprometendo a materialidade do crime. Já os resultados falso-positivos, apesar de indesejados, não são tão críticos nos testes preliminares, pois podem ser contestados numa análise confirmatória pelo método de referência. Por isso, destaca-se que apenas quatro amostras de drogas foram classificadas como papel e apenas uma amostra de papel foi classificada como contendo droga.

Os ensaios de precisão, medidos pela ACO e CON, apresentaram resultados de 100% para todas as classes, com exceção de LSD1 e LSD2.

3.3.3. Submodelo NBOMe

O submodelo criado para diferenciar os 3 tipos de NBOMe's presentes nas amostras foi construído com 5 VL, explicando 96,4% da variância de **X** e 66,5% da variância de **Y**. Os valores de y para cada amostra são apresentados na Figura 3.8. Os gráficos de VIP escores e de vetores de regressão são apresentados na Figura 3.9.

Figura 3.8 – Valores preditos de y para as subclasses (A) 25B-NBOMe, (B) 25C-NBOMe e (C) 25I-NBOMe

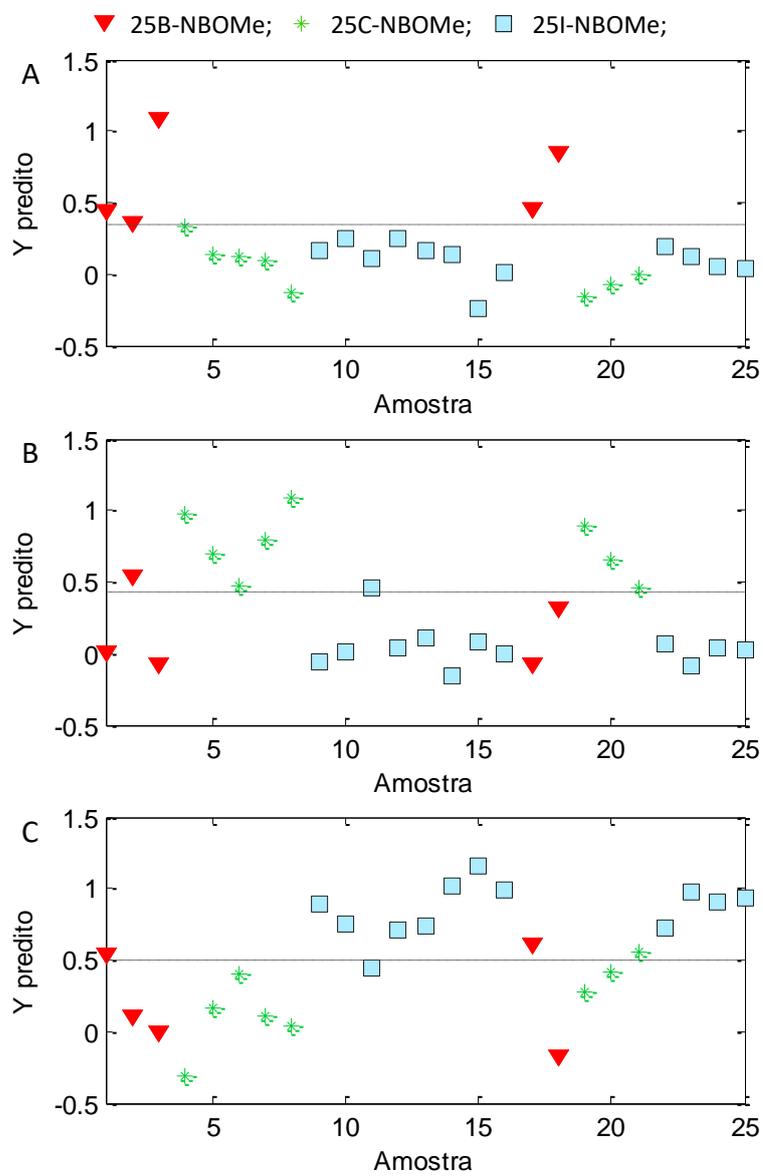
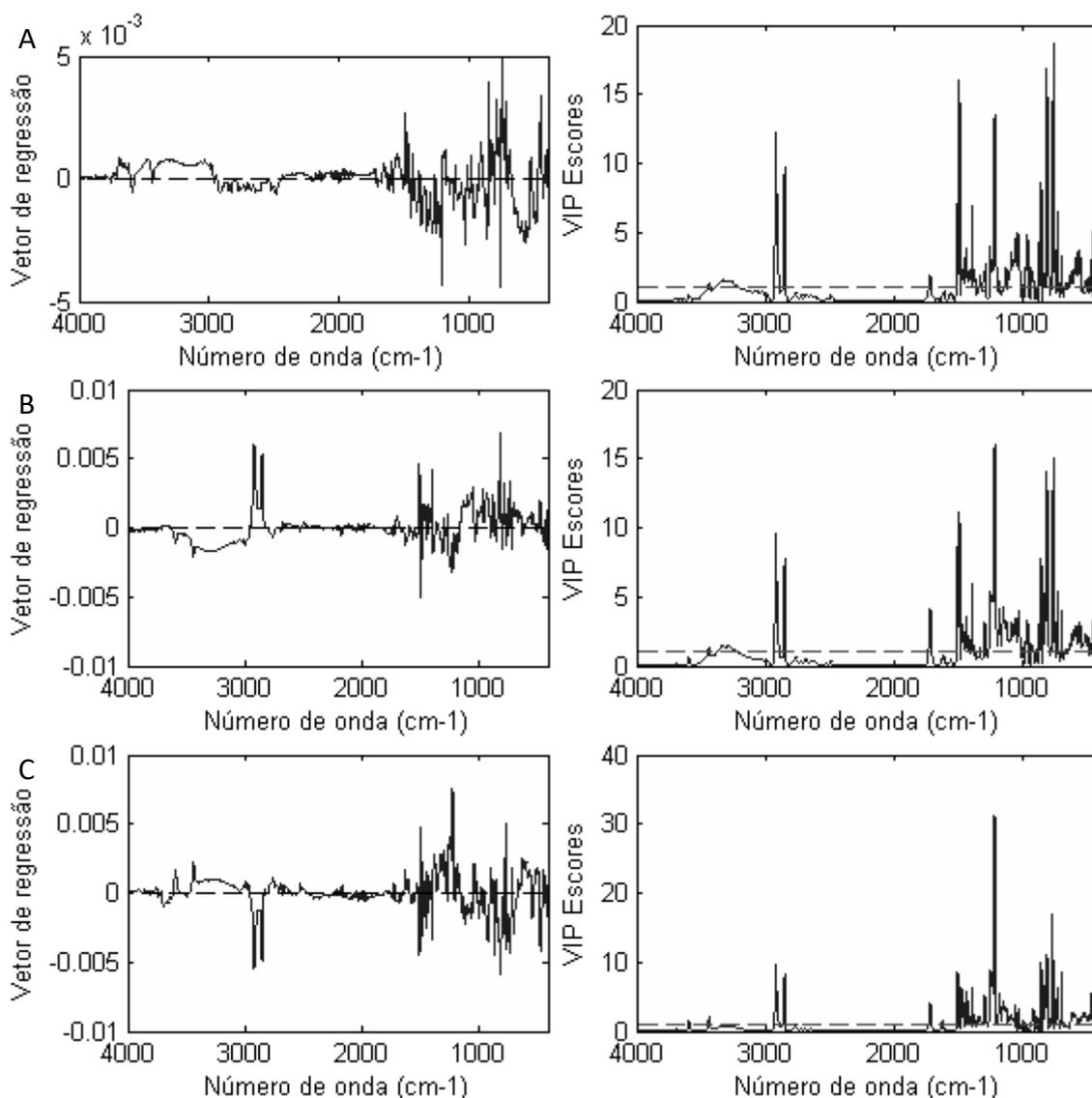


Figura 3.9 – Vetores de regressão e VIP para as subclasses (A) 25B-NBOMe, (B) 25C-NBOMe e (C) 25I-NBOMe



Os espectros das 3 drogas são muito semelhantes. Portanto, as variáveis importantes para a discriminação das classes são as mesmas, na maioria das vezes, como era esperado. Os números de onda que foram importantes a todas as classes são: 2917, 2849, 1490, 1217, 810, 766 e 756 cm^{-1} . Outra variável importante foi 1505 cm^{-1} , que está presente como significativa nos VIP scores de 25C-NBOMe e 25I-NBOMe. Dos números de onda importantes, os que apresentaram contribuições positivas para os vetores de regressão foram: 1492 e 756 cm^{-1} para a classe 25B-NBOMe, 2917, 2849, 1505, 810 e 765 cm^{-1} para a classe 25C-NBOMe, e 1217

e 765 cm^{-1} para a classe 25I-NBOMe. Todos estes picos estão presentes nos espectros de referência das classes, exceto o pico em 756 cm^{-1} , que está presente apenas no espectro de 25I-NBOMe. Contudo, isso não é considerado uma incoerência, pois as classes são excludentes entre si⁶⁸.

As quantidades de amostras previstas em cada classe são apresentadas em forma de matriz de confusão, na Tabela 3.5. Os valores das FOM para cada classe são apresentados na Tabela 3.6.

Tabela 3.5 – Matriz de confusão de classificação do submodelo para amostras de treinamento/teste

		Classe real		
		25B-NBOMe	25C-NBOMe	25I-NBOMe
Classe prevista	25B-NBOMe	2/2	0/0	0/0
	25C-NBOMe	1/0	5/2	1/0
	25I-NBOMe	0/0	0/1	7/4

Tabela 3.6 – Figuras de mérito do submodelo, em porcentagem, por subclasse, para conjuntos de treinamento e teste.

Conjunto de treinamento (%)							
Classe	TFP	TFN	TCF	TSN	TSL		
25B-NBOMe	0	33,3	66,7	66,7	100		
25C-NBOMe	18,2	0	81,8	100	81,8		
25I-NBOMe	0	12,5	87,5	87,5	100		
Média	6,1	15,3	78,7	84,7	93,9		
Conjunto de teste (%)							
Classe	TFP	TFN	TCF	TSN	TSL	ACO	CON
25B-NBOMe	0	0	100	100	100	100,0	100,0
25C-NBOMe	0	33,3	66,7	66,7	100	100,0	83,3
25I-NBOMe	20	0	80	100	80	100,0	100,0
Média	6,7	11,1	82,2	88,9	93,3	100,0	94,4

TFP – taxa de falso positivo; TFN – taxa de falso negativo; TCF – taxa de confiabilidade; TSN – taxa de sensibilidade; TSL – taxa de seletividade; ACO – acórdância; CON – concordância.

No modelo de NBOMe, o número de amostras utilizado foi muito pequeno e, por isso, os valores das FOM variaram muito, mesmo para o caso em que apenas uma amostra foi predita erroneamente. Por exemplo, apenas uma amostra de 25B-NBOMe foi predita como falso-negativo, mas isso representou 33,3% das amostras de treinamento dessa classe. Os ensaios de precisão, medidos pela ACO e CON, apresentaram resultados de 100% para todas as classes.

3.4. Conclusões

Um método de classificação supervisionada PLS-DA por análise direta usando ATR-FTIR foi desenvolvido e validado para discriminar amostras de drogas em selos nas classes NBOMe, 2C-H, MAL e papel (branco), sendo a classe NBOMe dividida em um submodelo nas classes 25B-NBOMe, 25C-NBOMe e 25I-NBOMe. O método é rápido, sendo que a análise gasta 2 minutos por amostra, incluindo limpeza do equipamento e leitura de *background*. Destaca-se que este trabalho é pioneiro na análise direta de drogas em selos utilizando métodos quimiométricos supervisionados.

A classe LSD1 não foi bem modelada, provavelmente pela baixa concentração da droga nos selos. Por isso, não se deve confiar nos resultados dessa classe. A classe LSD2, apesar de bem modelada, também não deve ser usada como fonte de resultados confiáveis. Essa classe foi modelada com base no copolímero presente nessas amostras. Como é possível que outras drogas sejam traficadas em selos que contenham esse copolímero, não seria possível afirmar qual a droga presente na amostra.

Além da praticidade do método, os modelos quimiométricos podem ser atualizados para incluir novas classes. Com isso, as novas drogas que não foram

incorporadas no método, tornam-se passíveis de serem analisadas, desde que haja uma quantidade satisfatória de amostras para fazer o treinamento do modelo. Essa característica é bastante desejável, visto que novas drogas estão surgindo constantemente no mercado do tráfico.

A espectroscopia de infravermelho é considerada uma técnica classe A pelo SWGDRUG, porém, ela não deve ser usada como única forma de análise de droga para elaboração de laudo³⁰. Contudo, devido à sua praticidade e à frequência analítica desenvolvida, o método proposto pode ser usado na triagem (*screening*) de amostras de selos, o que atualmente é feito por métodos colorimétricos que estão disponíveis apenas para identificar LSD.

4. Classificação de drogas em comprimidos tipo ecstasy

4.1. Introdução

Os comprimidos estão entre as formas de apresentação de drogas mais usadas, devido à sua praticidade de transporte e consumo. Nos anos 2000, a venda de substâncias ilegais em comprimidos se sofisticou, tanto em produção quanto em estratégia de mercado. A grande diversidade de formas, cores e estampas dos comprimidos, além de opções com alta pureza, são maneiras de atrair o usuário da droga⁶⁹.

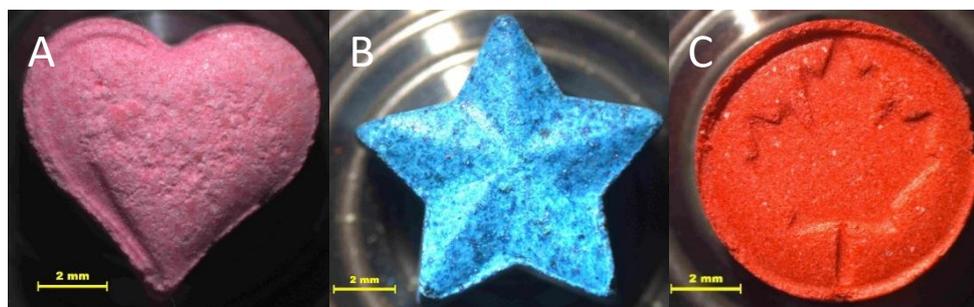
Ecstasy é o nome pelo qual ficou conhecida a substância 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), um estimulante tipo anfetamina (ATS). Essa molécula foi sintetizada e patenteada em 1912, pela Merck, mas nenhum uso médico foi relacionado ao MDMA até a década de 1960⁷⁰. Seu uso como droga de abuso foi relatado e estudado na década de 1970, nos Estados Unidos da América⁷⁰, e, por seus efeitos psicotrópicos, o *ecstasy* foi classificado como substância controlada em muitos países. Mesmo proibido, o MDMA foi difundido, principalmente em festas de música eletrônica, na Europa durante a década de 1990⁷¹ e também no Brasil⁷². Entre seus efeitos cita-se sua capacidade estimulante, alucinógena em altas concentrações, e entactogênica (euforia, aumento do estado de consciência e de empatia)^{5;73}.

Como descrito no parágrafo anterior, *ecstasy* é o nome dado ao MDMA. Porém, diversas outras drogas têm sido encontradas em comprimidos tidos como *ecstasy*. Se até 2005 o MDMA e seus análogos, como MDA e MDEA, representavam 70% dos comprimidos apreendidos na Europa, em 2011, mais da metade dos comprimidos não continha essas substâncias⁷⁴. Já em um estudo feito em São

Paulo, entre 2011 e 2012 apenas 44,7% dos comprimidos apreendidos continham MDMA⁷⁵.

Assim, a designação de comprimido “tipo *ecstasy*” (*ecstasy-like*) ou “vendido como *ecstasy*” tem sido adotada. Entre as drogas encontradas nos comprimidos tipo *ecstasy* estão as anfetaminas, as piperazinas e, mais recentemente, as catinonas⁷⁴⁻⁷⁶. Na Figura 4.1, 3 comprimidos tipo *ecstasy* apreendidos são mostrados, cada um contendo uma droga diferente.

Figura 4.1 – Comprimidos tipo *ecstasy* apreendidos contendo (A) MDMA, (B) PV-8 e (C) 5-MeO-MIPT



Os comprimidos apreendidos são analisados pelos testes colorimétricos de Marquis e de Simon e por métodos instrumentais. Os testes de Marquis e de Simon possibilitam a identificação de anfetaminas e até a diferenciação entre algumas destas⁷⁷. Porém, ainda não há teste que permita a identificação de todas as drogas presentes em comprimidos. De fato, mesmo a identificação de MDMA pode ser difícil em comprimidos com menor concentração de droga^{77;78}. Quanto aos métodos instrumentais, diversas técnicas já foram usadas. Oficialmente, GC-MS e LC-MS são aplicadas para identificação dessas substâncias³⁰. Outras técnicas que são relatadas para análise de comprimidos tipo *ecstasy* são: FT-Raman⁷⁹, espectroscopia NIR⁸⁰, voltametria⁸¹, eletroforese capilar⁸², cromatografia em camada delgada⁸³, e sensor colorimétrico sólido baseado em análise de imagens digitais⁸⁴.

Nesta aplicação objetivou-se o desenvolvimento de um método rápido de análise para identificação de drogas em comprimidos apreendidos usando ATR-FTIR e PLS-DA.

4.2. Materiais e métodos

4.2.1. Equipamentos e programas

Para realização das análises espectroscópicas, foi utilizado um espectrofotômetro de infravermelho médio com transformada de Fourier e acessório de refletância total atenuada (ATR-FTIR) Thermo Nicolet™ iZ10 com fonte EverGlo, detector DLaTGS e módulo ATR Smart Orbit de reflexão única com cristal de diamante, presente na Seção Técnica de Física e Química Legal do Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Minas Gerais (IC-PCMG).

Os dados foram obtidos no programa OMNIC 9.1.27 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) e tratados no programa MATLAB, versão 7.13 (The MathWorks, Natick, MA, EUA), usando o pacote PLS Toolbox, versão 6.7.1 (Eigenvector Technologies, Manson, WA, EUA), que contém as rotinas para métodos de classificação supervisionada.

As identificações espectrais foram feitas por comparação com os arquivos das monografias do SWGDRUG⁸⁵, pois não há espectros de todas as drogas analisadas nas bibliotecas do programa OMNIC.

4.2.2. Amostras

92 amostras de comprimidos tipo *ecstasy*, de 74 apreensões ocorridas entre 2014 e 2016 em Minas Gerais, foram usadas para a construção e validação de um

método qualitativo para identificar a droga presente. Os comprimidos foram triturados em almofariz e o pó resultante foi armazenado em frascos de plástico tipo Eppendorf. Em seguida, cada amostra foi dividida para a análise por ATR-FTIR e pelo método oficial baseado em GC-MS.

Os resultados do método oficial, registrados em laudos, foram usados como referência para as atribuições das classes. Amostras que continham mais de uma substância de abuso não foram usadas no desenvolvimento do método. Na Tabela 4.1, na seção 4.2.3, é mostrada a quantidade de amostras referentes a cada droga estudada.

Para aquisição dos espectros IR, uma pequena quantidade do pó de cada amostra foi colocada sobre o cristal do acessório ATR, de forma a cobri-lo totalmente. Os espectros foram registrados como a média de 16 varreduras, com resolução de 4 cm^{-1} , na faixa entre 400 e 4000 cm^{-1} . Após o registro do espectro, o pó foi descartado. Contudo, destaca-se a possibilidade de recolher essa amostra, pois a análise por ATR-FTIR não é destrutiva. Um espectro branco foi registrado antes de cada amostra, seguindo protocolo do laboratório, para correção de interferências atmosféricas.

4.2.3. Modelos quimiométricos

Todos os espectros foram pré-processados por SNV devido à natureza sólida da amostra, assim como descrito na seção 3.2.3. Um modelo prévio de PCA foi feito, centrando os dados na média, para observar agrupamentos das amostras. Posteriormente, para os modelos PLS-DA, as amostras foram separadas em classes de acordo com a droga presente e os dados foram centrados no centroide de classes.

Para a separação das classes, foram consideradas as similaridades entre as drogas e três tipos principais de droga foram identificados: triptaminas, anfetaminas e catinonas. O tipo triptamina foi representado apenas por uma droga, 5-MeO-MIPT. Contudo, mais de uma droga foram identificadas nos outros tipos de drogas, sendo três catinonas (metilona, etilona e PV-8), e três anfetaminas (metanfetamina, MDMA e MDA). As estruturas químicas das drogas estudadas são mostradas no Anexo. Apesar das três anfetaminas serem consideradas como um mesmo tipo de droga, os estimulantes tipo anfetamina (ATS), a estrutura da metanfetamina é significativamente diferente das estruturas de MDMA e MDA. Nessas últimas, há um grupo metilenodioxí (MD) ligado ao anel aromático. Devido à função éter desse grupo, as características espectrais dessas moléculas são diferentes se comparadas ao espectro da metanfetamina. Assim, as drogas do tipo anfetamina foram divididas em duas classes: uma contendo apenas metanfetamina e outra contendo ambas as drogas com o grupo MD. Essa classe foi chamada MDs.

Dessa forma, o modelo principal PLS-DA foi construído com quatro classes: 5-MeO-MIPT, MDs (MDMA e MDA), metanfetamina, e catinonas (metilona, etilona e PV-8). Posteriormente, dois submodelos foram construídos: um submodelo foi usado para discriminar amostras da classe MDs entre MDMA e MDA; e o outro submodelo foi construído para distinguir os três tipos de catinonas.

As amostras foram separadas sistematicamente em conjuntos de treinamento e teste, usando o algoritmo Kennard-Stone⁶². O algoritmo foi aplicado separadamente à cada classe, garantindo a representatividade de todas as classes. 2/3 das amostras foram selecionados para o conjunto de treinamento e 1/3 restante das amostras foi selecionado para o conjunto de teste. Para o submodelo das catinonas, a separação em conjuntos de treinamento e teste não foi possível, devido

ao pequeno número de amostras disponível contendo as drogas metilona e PV-8. Assim, para esse submodelo, a validação utilizando um conjunto de teste externo não foi realizada e os parâmetros de mérito do submodelo foram estimados usando validação cruzada.

Na Tabela 4.1 estão relacionadas as quantidades de amostras em cada classe, para o modelo principal e submodelos, divididas entre conjunto de treinamento e teste.

Tabela 4.1 – Quantidades de amostras por classe nos conjuntos de treinamento e teste, para o modelo principal e os submodelos MDs e Catinonas

Classe	Total	Treinamento	Teste
<i>Modelo principal</i>			
5-MeO-MIPT	8	5	3
MDs	50	32	18
Metanfetamina	6	4	2
Catinonas	28	18	10
<i>Submodelo MDs</i>			
MDMA	43	28	15
MDA	7	5	2
<i>Submodelo Catinonas</i>			
Methylone	3	3	
Ethylone	22	22	
PV8	3	3	

Para todos os modelos, o número de VL foi escolhido por meio de validação cruzada, usando o método de reamostragem por venezianas, visando menor CVCE médio. 7 divisões foram feitas na reamostragem para o modelo principal, enquanto 5 divisões foram feitas para os submodelos. A restrição para associar cada amostra a

apenas uma classe foi aplicada, sendo considerado, portanto, que uma amostra pertence à classe com maior probabilidade associada para ela.

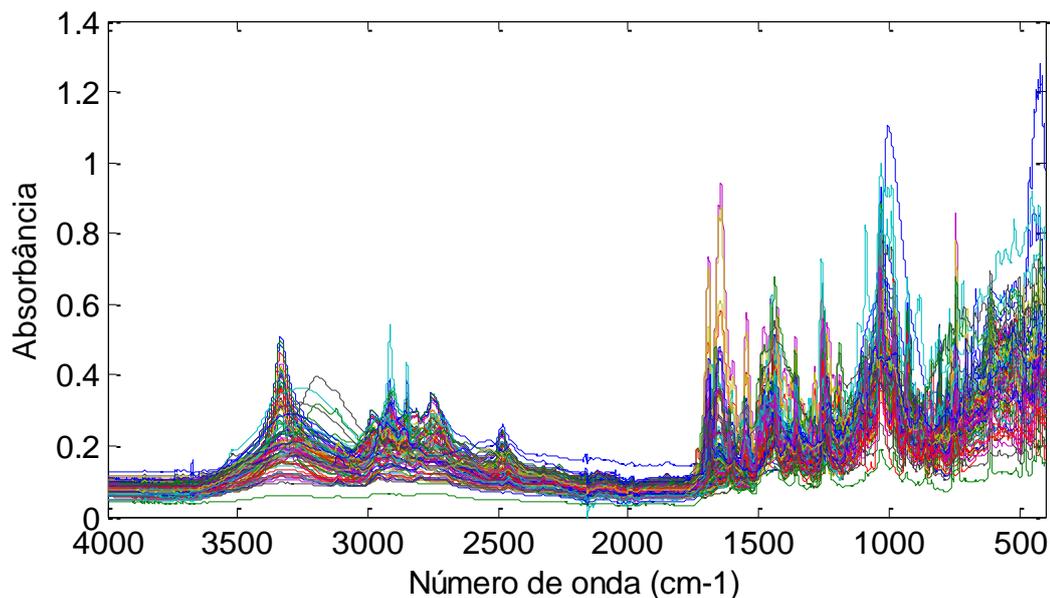
Os modelos foram avaliados estimando FOM para veracidade (TFP, TFN e TCF), incerteza (TSN e TSL) e precisão (ACO). A concordância (CON) não pôde ser estimada devido a alterações significativas na estrutura do laboratório, alterando a resposta do modelo. As FOM de veracidade e seletividade foram estimadas separadamente nos conjuntos de treinamento e teste, para cada classe. A ACO foi estimada apenas no conjunto de teste, analisando-se 6 replicatas de uma amostra de cada classe, pertencente ao conjunto de teste. Para o submodelo de catinonas, a ACO não foi estimada pois não foi definido um conjunto de teste. A média de cada FOM foi calculada e atribuída como representativa do modelo completo.

Após a validação dos modelos, os vetores informativos de VIP scores e de regressão foram analisados para fazer atribuição de sinais e correlacioná-los às drogas de cada classe. Assim, os modelos passam a ter interpretação química, aumentando a confiabilidade dos mesmos.

4.3. Resultados

Os espectros obtidos para todas as amostras de comprimido usadas no trabalho são apresentados na Figura 4.2.

Figura 4.2 – Espectros ATR-FTIR de 92 amostras de ecstasy



Os espectros das amostras foram registrados diretamente no pó. Portanto, os outros componentes desse pó, tais como adulterantes, excipientes e contaminantes, e suas correlações de composição com cada classe são relevantes para as corretas classificações do modelo. O método de análise oficial para drogas, baseado em GC-MS, é capaz de identificar a presença de outras moléculas pequenas, como usualmente são os adulterantes. Já os excipientes são menos voláteis e, assim, foram identificados por deconvolução espectral no IR.

Os adulterantes encontrados e a quantidade de amostras que os continham estão relacionados na tabela 4.2. A cafeína é um adulterante comum que foi encontrado em 35,9% das amostras estudadas. A efedrina foi encontrada em 3 amostras, sendo exclusivamente em amostras de metanfetamina. Entre os excipientes, foram identificados estearato de magnésio, lactose, celulose e amido.

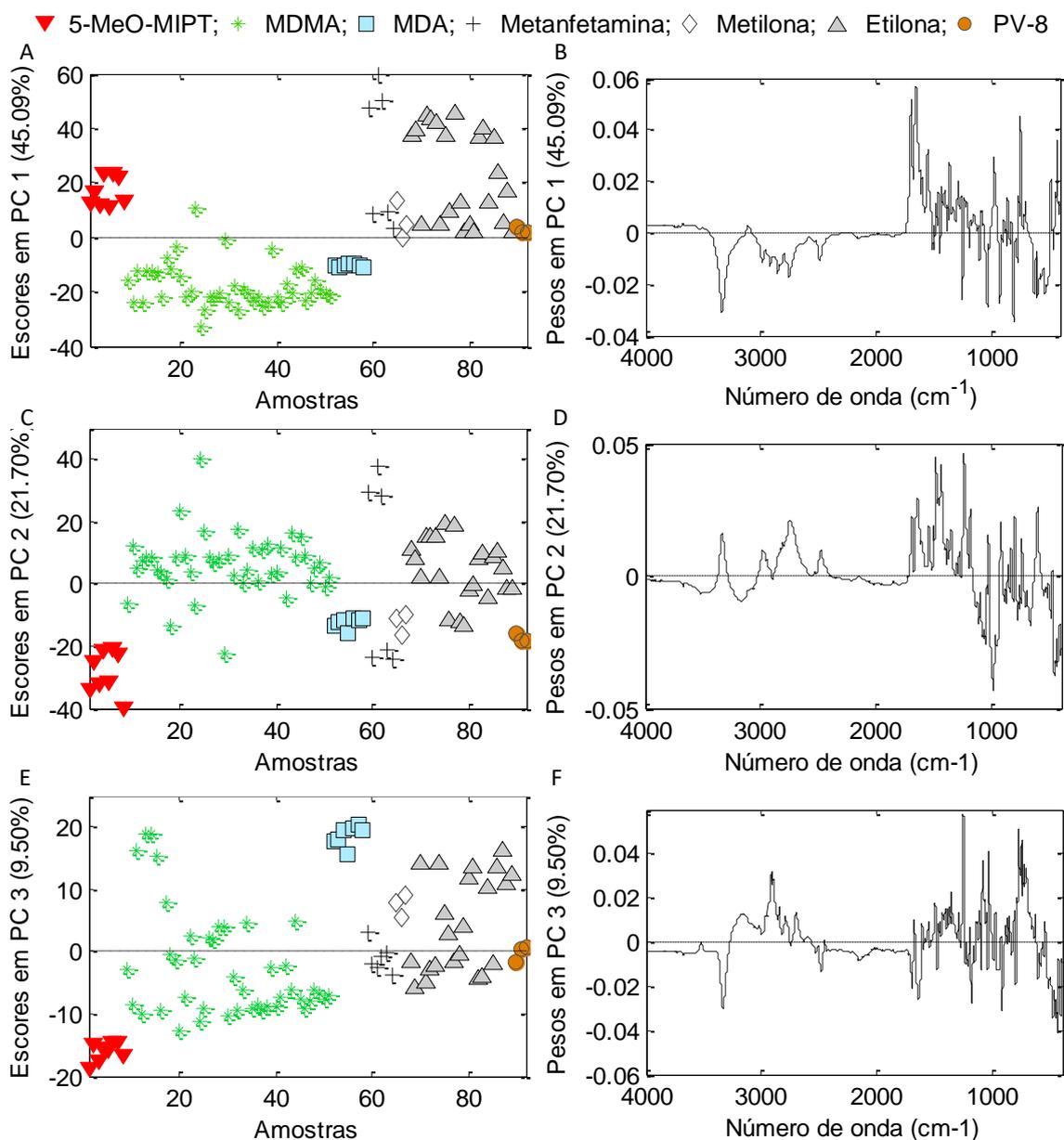
Tabela 4.2 – Número de amostras que contêm adulterantes e as drogas associadas a estes.

	Número de amostras	Drogas associadas
Cafeína	33	5-MeO-MIPT (6), MDMA (5), MDA (1), metanfetamina (6), Metilona (1), Etilona (14)
Femproporex	5	MDMA (1), Metanfetamina (1), Etilona (3)
Efedrina	3	Metanfetamina (3)
Sibutramina	2	Etilona (2)
Lidocaína	1	Metanfetamina (1)

4.3.1. Modelo preliminar PCA

Inicialmente, um modelo PCA foi construído usando 3 PCs (76,3%) que mostraram informação relevante para uma discriminação parcial das amostras. Os gráficos de escores e pesos para cada PC são mostrados na Figura 4.3.

Figura 4.3 – Escores (A, C e E) e pesos (B, D e F) em PC1, PC2 e PC3, respectivamente.



A PC1, que representa 45,09% da variância espectral, contrastou as amostras que possuem cafeína (principalmente amostras de 5-MeO-MIPT, metanfetamina e catinonas), em escores positivos, e as amostras da classe MDs, em escores negativos. A análise dos pesos da PC1 corrobora essa distinção. Valores positivos de pesos foram associados à cafeína: 1692 e 1644 cm^{-1} foram atribuídos às duas carbonilas presentes na molécula, 1547 cm^{-1} foi relacionado ao estiramento C=N, e

744 cm^{-1} foi associado à deformação fora do plano de C-H aromático^{26;86}. Já para os valores negativos de pesos, a banda em 3335 cm^{-1} foi associada ao estiramento N-H de amina secundária presente no MDMA, e a região de múltiplos picos entre 3000 e 2700 cm^{-1} foi relacionada a estiramentos C-H do MDA e de estearato de magnésio²⁶. Além dessas bandas, picos em 1030, 920 e 804 cm^{-1} também apresentaram valores negativos de pesos para PC1 e foram encontrados nos espectros de MDMA e MDA⁸⁵.

O estearato de magnésio é um excipiente comum em comprimidos, sendo usado para lubrificação no processo de fabricação⁸⁷. Já a cafeína é um adulterante usado em drogas ilícitas devido tanto às suas características físicas quanto farmacêuticas, por ser uma substância lícita e barata. Por ser um pó branco, a cafeína é usada para adulterar drogas que possuem essa mesma aparência, como cocaína, metanfetamina e ecstasy. Nesses casos, o papel do adulterante é de diluição ou preenchimento. Já quanto às propriedades farmacêuticas, a cafeína é um estimulante que mimetiza, de maneira mais fraca, os efeitos da droga ilegal⁸⁸.

Apesar do grande potencial da cafeína como adulterante em drogas estimulantes, poucas amostras de MDMA e MDA continham cafeína. Tem sido descrito na literatura que os efeitos tóxicos de anfetaminas substituídas por grupo 3,4-metilenodioxo são fortemente potencializados pela administração conjunta de cafeína, o que pode até levar à letalidade⁸⁹. Dessa forma, a baixa ocorrência de cafeína nas amostras de MDMA e MDA estudadas pode estar relacionada com esse efeito sinérgico.

A PC2, que descreve 21,70% da variância espectral, apresentou um contraste entre dois grupos de amostras contendo metanfetamina. A diferença entre esses grupos é a presença de efedrina nas amostras com projeção positiva em PC2. A

efedrina é uma fenetilamina usada como broncodilatador, extraída de plantas do gênero *ephedra*⁹⁰. Além do seu uso medicinal, a efedrina também é precursora na produção de metanfetamina por uma das rotas sintéticas mais usadas. Assim, a efedrina é comumente encontrada como impureza/contaminante na metanfetamina⁹¹. O gráfico de pesos em PC2 mostra alguns picos característicos do espectro IR de efedrina: a banda em 2980 cm⁻¹, relativa ao estiramento CH₃, o pico em 1035 cm⁻¹, devido à deformação no-plano da ligação C-H do anel, e o pico em 743 cm⁻¹, associado à deformação fora do plano da ligação C-H do anel⁹².

Além desse contraste, escores negativos de PC2 foram observados para as amostras de 5-MeO-MIPT, metilona, PV-8 e algumas amostras de etilona. Pela observação dos pesos, esse comportamento foi correlacionado aos excipientes celulose, lactose e amido. A PC3, que explica 9,50% da variância, distingue amostras contendo lactose, em escores positivos, das amostras de 5-MeO-MIPT, em escores negativos. Destaca-se que nenhuma amostra de 5-MeO-MIPT continha lactose como excipiente.

Esse modelo PCA mostrou certa discriminação de classes baseada no padrão espectral das drogas e também numa correlação com os outros componentes dos comprimidos.

4.3.2. Modelo principal

O modelo principal de PLS-DA foi construído com 5 VL, representando 86,17% da variância espectral (**X**) e 73,59% da variância das classes (**Y**). Os valores preditos de Y para cada amostra em cada classe são mostrados na Figura 4.4.

Das 92 amostras, apenas uma amostra foi classificada na classe errada, apesar da similaridade nas estruturas das drogas do tipo fenetilamina. A amostra

classificada erroneamente foi uma amostra de MDMA do conjunto de treinamento que foi classificada como catinona. Essa amostra foi investigada e o seu cromatograma GC-MS indicou a presença de um sinal intenso referente a femproporex, um estimulante da classe das fenetilaminas, e um pequeno sinal referente a MDMA. Dessa forma, é esperado que o espectro IR contenha mais informações sobre o femproporex do que sobre MDMA, justificando o erro de classificação.

Apesar da boa classificação das amostras da classe metanfetamina, deve-se prestar atenção especial a essa classe. Os valores de Y preditos para as amostras dessa classe foram relativamente pequenos, mesmo para amostras de treinamento. Enquanto se espera valores próximos de 1 para amostras que pertencem à esta classe, os valores preditos foram menores que 0,5. Isso diminui a diferença de valores Y entre as amostras que pertencem à classe e as que não pertencem, o que pode representar um risco de erro em classificações futuras. Dois fatores foram apontados para explicar esse comportamento do modelo: a presença de cafeína em 35,9% de todas as amostras e, particularmente, em todas as amostras de metanfetamina, e a presença de efedrina em metade das amostras dessa classe. Ambas as hipóteses serão discutidas na seção sobre atribuições espectrais, a seguir.

A partir das predições do modelo, as FOM foram estimadas. Essas FOM são apresentadas na Tabela 4.3.

Figura 4.4 – Valores preditos de y para as classes (A) 5-MeO-MIPT, (B) MDs, (C) Metanfetamina e (D) Catinonas, no modelo principal PLS-DA

▼ 5-MeO-MIPT; * MDMA; □ MDA; + Metanfetamina; ◇ Metilona; △ Etilona; ● PV-8

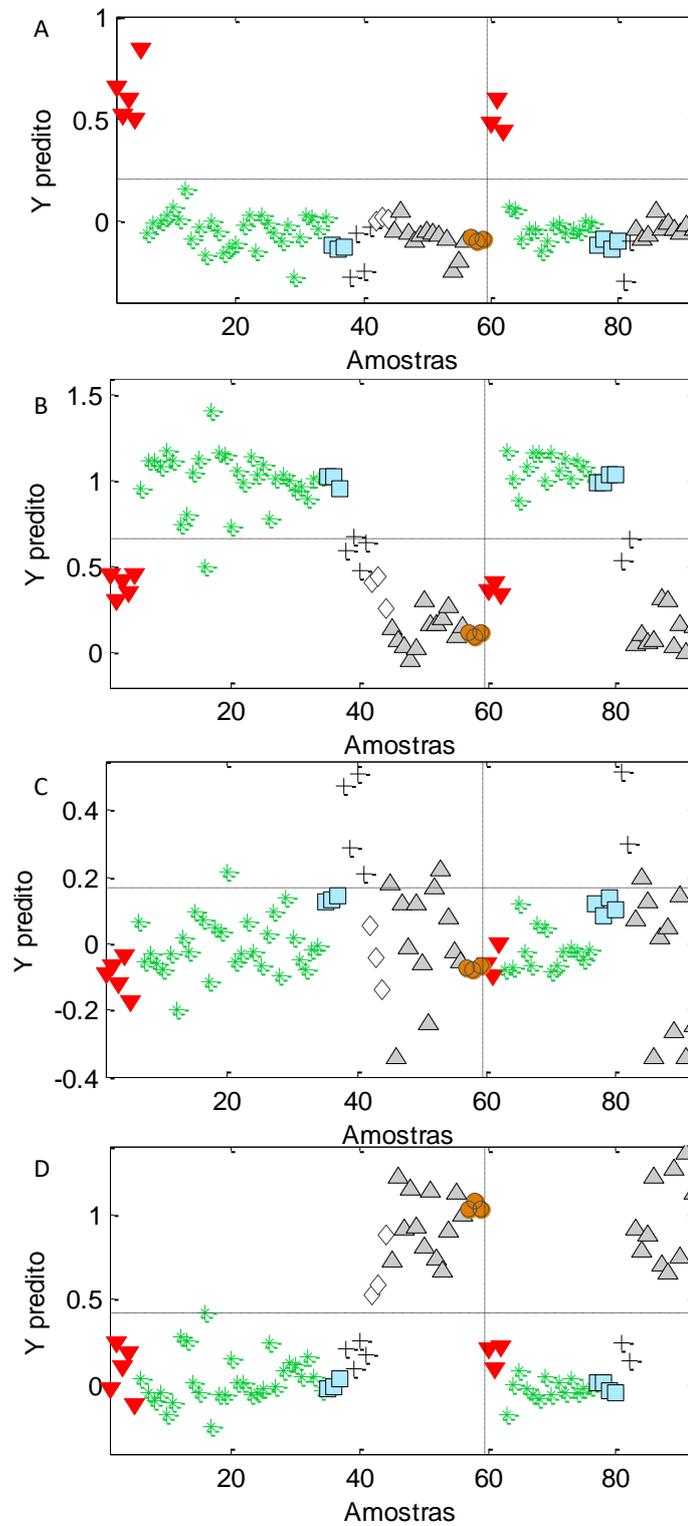


Tabela 4.3 – Figuras de mérito estimadas para o modelo principal PLS-DA, em porcentagem, para cada classe nos conjuntos de treinamento e teste

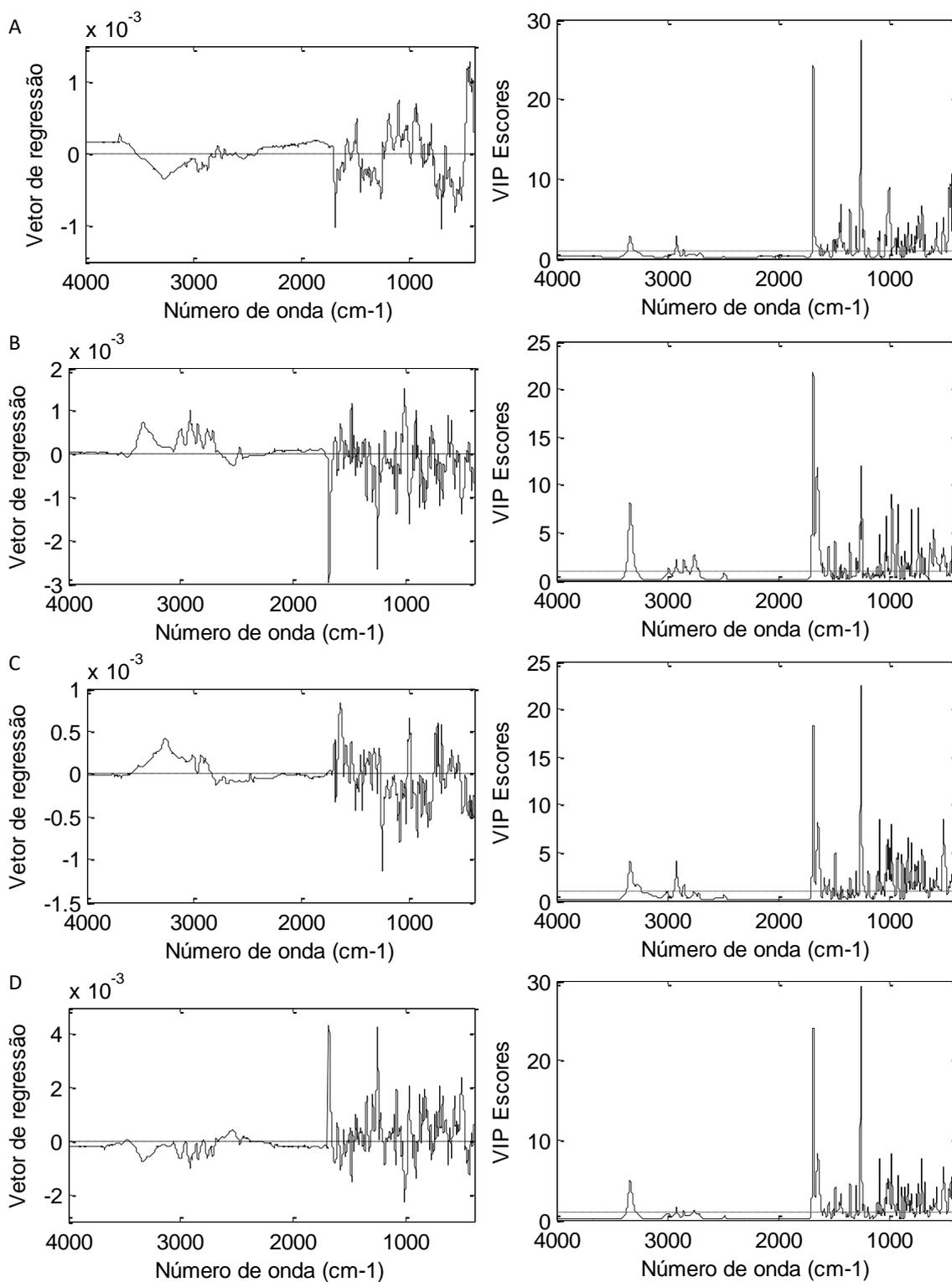
Conjunto de Treinamento (%)						
Classe	TFP	TFN	TCF	TSN	TSL	
5-MeO-MIPT	0,0	0,0	100	100	100	
MDs	0,0	3,1	96,9	96,9	100	
Metanfetamina	0,0	0,0	100	100	100	
Catinonas	2,4	0,0	97,6	100	97,6	
Média	0,6	0,8	98,6	99,2	99,4	
Conjunto de teste (%)						
Classe	TFP	TFN	TCF	TSN	TSL	ACO
5-MeO-MIPT	0,0	0,0	100	100	100	100
MDs	0,0	0,0	100	100	100	100
Metanfetamina	0,0	0,0	100	100	100	100
Catinonas	0,0	0,0	100	100	100	100
Média	0,0	0,0	100	100	100	100

TFP – taxa de falso positivo; TFN – taxa de falso negativo; TCF – taxa de confiabilidade; TSN – taxa de sensibilidade; TSL – taxa de seletividade; ACO – acordância.

A taxa de confiabilidade média do modelo foi 98,6% e a acordância foi 100% para todas as classes. Isso indica a grande eficiência do método na distinção das classes, apesar da grande similaridade na estrutura das fenetilaminas.

Além das FOM indicarem grande eficiência na predição das classes, os vetores de VIP scores junto aos vetores de regressão de cada classe corroboram para a boa classificação pelo modelo. Os vetores VIP scores e de regressão são mostrados na Figura 4.5 e as variáveis com maiores valores de VIP scores são relacionadas na Tabela 4.4.

Figura 4.5 – Vetores de regressão e VIP para as classes (A) 5-MeO-MIPT, (B) MDs, (C) Metanfetamina e (D) Catinonas, para o modelo principal PLS-DA



Os espectros de referência foram obtidos na base de monografias do SWGDRUG⁸⁵, pois não haviam espectros de todas as drogas estudadas nas bibliotecas do programa OMNIC.

Tabela 4.4 – Números de onda mais discriminantes para modelagem de cada classe, indicados por VIP escores, e suas contribuições para os vetores de regressão.

Classe	Números de onda (cm ⁻¹)
5-MeO-MIPT	+:1478, 776; -: 3335, 2917, 1686, 1437, 1359, 1256;
MDs	+: 3335, 2917, 1644, 920; -: 1686, 1256, 979;
Metanfetamina	+: 3335, 2917, 1644, 1485; -: 1686, 1256, 1088, 979;
Catinonas	+: 1686, 1256, 1088, 979, 710; -: 3335, 1644;

A classe 5-MeO-MIPT foi discriminada, principalmente, por negação às outras classes. Isso pode ser observado pelo pequeno número de variáveis importantes que possuem contribuição positiva no vetor de regressão dessa classe. Ainda assim, duas variáveis com valores positivos nesse vetor de regressão foram importantes para a classificação: 1478 e 776 cm⁻¹. Essa contribuição positiva previne que as amostras que devem ser atribuídas a essa classe sejam preditas como não pertencentes a nenhuma classe. As variáveis 1478 e 776 cm⁻¹ estão presentes no espectro de referência da droga 5-MeO-MIPT⁸⁵ e podem ser atribuídos ao estiramento C=C-C aromático e à deformação fora do plano da ligação C-H de anel aromático, respectivamente²⁶.

A modelagem das classes MDs e metanfetamina tiveram em comum as variáveis 3335 e 2917 cm⁻¹ nos vetores VIP escores e ambas com contribuição

positiva nos vetores de regressão. O pico 3335 cm^{-1} está presente nos espectros de MDMA e metanfetamina⁸⁵, e foi associado ao estiramento N-H de amina secundária. Já o sinal em 2917 cm^{-1} foi caracterizado como estiramento CH_2 do estearato de magnésio⁹³. O valor positivo desta variável no vetor de regressão dessas duas classes sugere que a concentração de estearato de magnésio é maior nas amostras dessas classes, se comparada com as outras classes de drogas. A classe de MDs também foi discriminada pela variável 920 cm^{-1} , atribuída à deformação fora do plano de C-H aromático. Tanto o espectro de MDMA quanto o de MDA possuem sinais nessa região: 930 cm^{-1} para MDMA e 927 cm^{-1} para MDA⁸⁵.

Além dos números de onda 3335 e 2917 cm^{-1} , a classe da metanfetamina também foi caracterizada pelas variáveis 1644 e 1485 cm^{-1} . O sinal em 1644 cm^{-1} foi atribuído ao estiramento C=O de cafeína⁸⁶. Esse sinal foi importante e com valor positivo no vetor de regressão, porque a cafeína estava presente em todas as amostras de metanfetamina. Devido a isso, o modelo foi construído considerando tanto a metanfetamina quanto a cafeína e, assim, uma amostra de metanfetamina que não possuir cafeína em sua composição pode ser classificada erradamente, se analisada por esse modelo. A variável 1485 cm^{-1} foi encontrada no espectro de metanfetamina⁸⁵ e atribuída ao estiramento C=C-C aromático. Um detalhe importante sobre o número de onda 3335 cm^{-1} deve ser explicado. Três amostras de metanfetamina continham também efedrina, como descrito na seção 4.3, e a banda de N-H dessa região está presente nos espectros de metanfetamina e de efedrina. Assim, as amostras que contêm as duas moléculas em sua composição têm maior intensidade de absorvância dessa banda, se comparadas a amostras que contêm apenas metanfetamina. Isso leva a maiores valores preditos de Y para essa classe, o que pode ser observado na Figura 4.4C, na qual dois grupos de amostras de

metanfetamina estão separados. Pela identificação por GC-MS, confirmou-se que as amostras com maiores valores de Y para essa classe possuem efedrina em sua composição.

Para a classificação de amostras de catinonas, as variáveis mais importantes foram 1686, 1256, 1088, 979 e 710 cm^{-1} . O pico intenso de VIP scores e o valor de regressão positivo em 1686 cm^{-1} , atribuído ao estiramento C=O, foram muito importantes para a discriminação dessa classe, pois as catinonas são as únicas drogas modeladas que possuem carbonilas em sua estrutura. O pico em 1686 cm^{-1} , porém, está presente apenas no espectro de PV-8, sendo o pico de C=O deslocado para 1676 e 1674 cm^{-1} nos espectros de metilona e etilona, respectivamente. Os picos em 1256, 1088 e 710 cm^{-1} foram encontrados nos espectros de metilona e etilona⁸⁵. Esses sinais foram atribuídos, nessa ordem, à vibração C-O-C do grupo metilenodioxí, à deformação C-H no plano e à deformação C-H fora do plano²⁶.

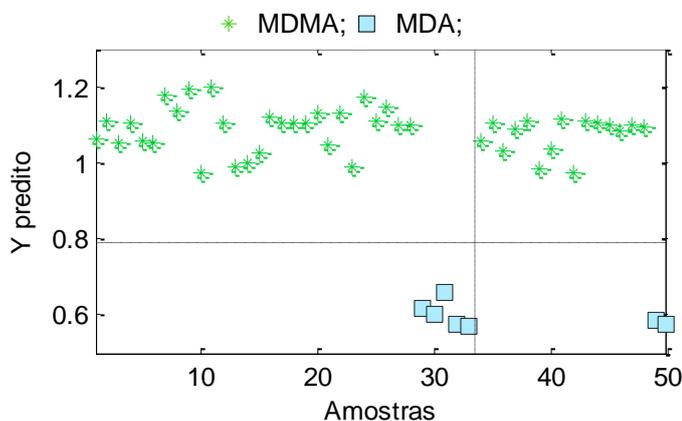
4.3.3. Submodelo de MDs

O submodelo usado para classificar MDMA e MDA é caracterizado por uma única discriminação, porque há apenas duas classes identificáveis. Assim, o gráfico de valores preditos Y para cada classe é uma versão especular do gráfico para a outra classe. Além disso, o vetor de VIP scores é o mesmo para ambas as classes e o vetor de regressão é o mesmo com sinais invertidos.

O modelo com 2 VL foi construído para discriminar as drogas MDs. Esse modelo representa 68,52% da variação de X e 48,78% da variação de Y . Os valores preditos de Y para a classe MDMA são apresentados na Figura 4.6. 100% das amostras foram preditas corretamente nesse modelo, tanto para o conjunto de treinamento quanto para o conjunto de teste. Portanto, TCF, TSN e TSL foram

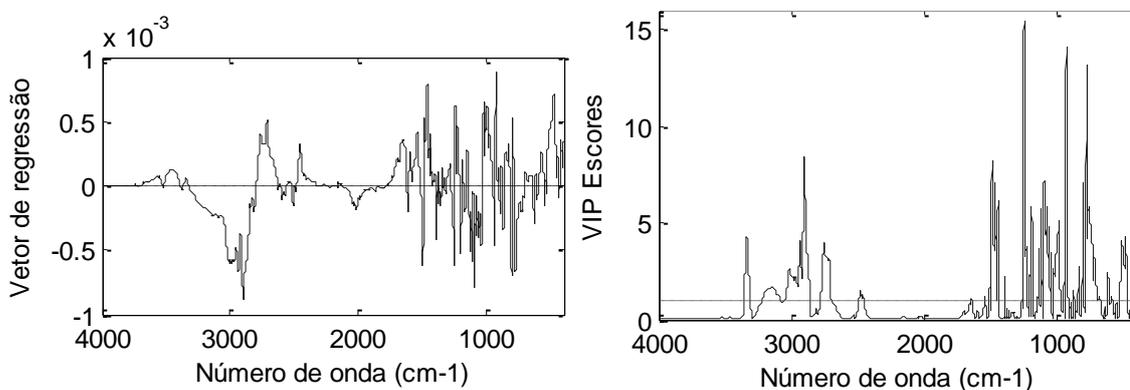
100%, e as TFP e TFN foram 0%. Todas as previsões de repetitividade também foram corretas e a ACO foi estimada como 100% para as duas drogas.

Figura 4.6 – Valores preditos de y para a subclasse MDMA



Para atribuição espectral, a análise de VIP scores e do vetor de regressão, apresentados na Figura 4.7, mostrou que as variáveis mais importantes são relacionadas ao espectro de MDMA.

Figura 4.7 – Vetores de regressão e VIP para a subclasse MDMA



As variáveis mais importantes com coeficientes positivos no vetor de regressão de MDMA foram 3335, 1488, 1246 e 929 cm⁻¹. As variáveis com coeficientes negativos no vetor de regressão, 2900, 1096 e 775 cm⁻¹, foram relacionadas à subclasse de MDA. Todas essas variáveis apresentam bandas de absorvência nos espectros de ambas as drogas. Contudo, a intensidade dos seus

sinais são diferentes para o MDMA e MDA⁸⁵, tornando a análise multivariada necessária.

4.3.4. Submodelo de catinonas

A discriminação das catinonas entre metilona, etilona e PV-8 foi feita por uma modelo de 5 VL, que explicaram 94,8% da variância de **X** e 85,1% da variância de **Y**. Os gráficos de valores preditos de Y para cada classe são apresentados na Figura 4.8. Apesar do pequeno número de amostras contendo metilona ou PV-8, um bom modelo foi construído e nenhuma amostra foi erroneamente classificada nessa etapa. Por não ser possível separar as amostras em um conjunto de validação externo, optou-se por realizar validação cruzada utilizando o método de reamostragem de venezianas. Apenas uma das 28 amostras foi classificada erroneamente na validação cruzada: uma amostra de metilona foi classificada como etilona. Pela similaridade dessas drogas e pequeno número de amostras, esse erro foi considerado aceitável.

Os vetores de VIP scores e de regressão para cada classe são apresentados na Figura 4.9. Uma das variáveis com maior valor de VIP score para as três classes foi a banda de 1686 cm^{-1} , característica do estiramento C=O. Apesar das três drogas apresentarem um grupo carbonila em sua estrutura, o número de onda da absorbância desse grupo pode ser um pouco diferente: 1676 cm^{-1} para metilona, 1672 cm^{-1} para etilona e 1686 cm^{-1} para PV-8⁸⁵. No respectivo vetor de regressão, pode-se observar a contribuição positiva da variável 1686 cm^{-1} para a classe PV-8. A classe da metilona foi discriminada principalmente pelas variáveis 1090 e 989 cm^{-1} , a etilona foi discriminada pelas variáveis 1489, 1254 e 1033 cm^{-1} ; e

PV-8 foi discriminada pelos picos em 703 e 681 cm^{-1} , atribuídos à deformação fora do plano de metileno na cadeia carbônica desta molécula²⁶.

Figura 4.8 – Valores preditos de Y para as subclasses (A) Metilona, (B) Etilona e (C) PV-8

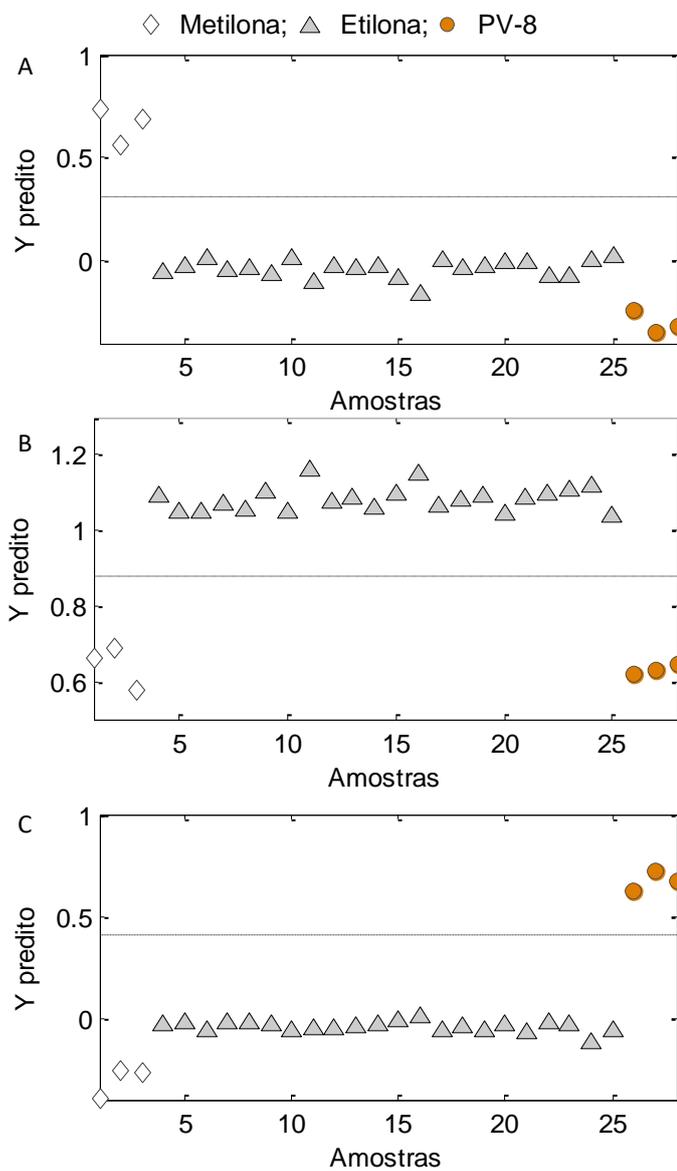
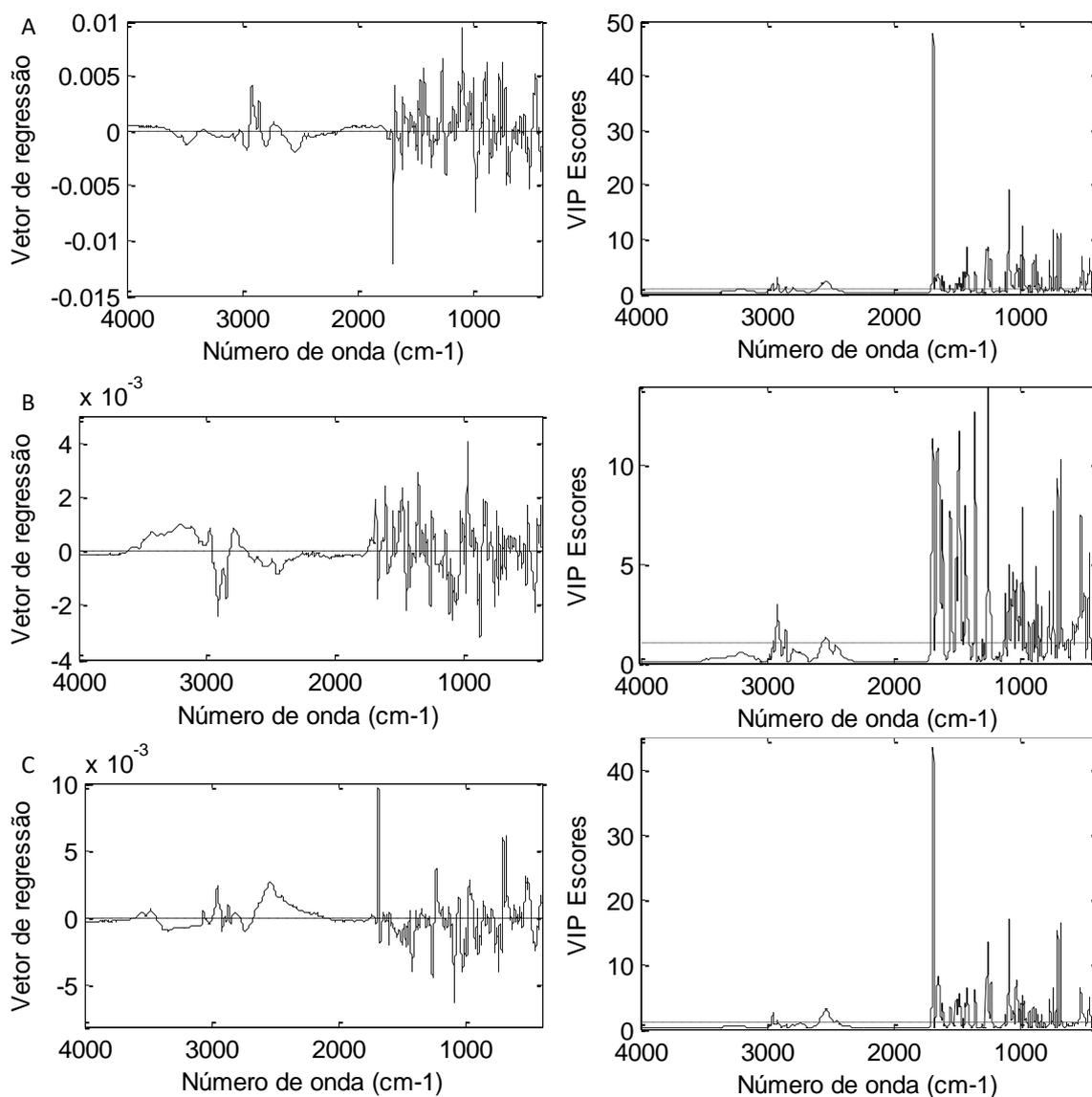


Figura 4.9 – Vetores de regressão e VIP para as subclasses (A) Metilona, (B) Etilona e (C) PV-8



4.4. Conclusões

Um método de classificação supervisionada PLS-DA usando ATR-FTIR foi desenvolvido e validado para discriminar amostras de drogas em comprimidos tipo ecstasy. O método foi capaz de discriminar as drogas 5-MeO-MIPT, MDMA, MDA, metanfetamina, metilona, etilona e PV-8.

A estratégia de modelos hierárquicos foi aplicada levando a 3 modelos, sendo um principal e dois submodelos. Isso permitiu uma melhor resolução dos sistemas estudados em cada modelo e classificações com maior eficiência.

O método proposto é capaz de ser adaptado para novas drogas em comprimidos que possam ser encontradas no mercado do tráfico, desde que haja quantidade suficiente para modelar uma nova classe. Essa característica é muito importante no atual momento, em que dezenas de NPS estão sendo reportadas anualmente à UNODC.

5. Classificação de autenticidade de medicamentos: sildenafil

5.1. Introdução

Os medicamentos inibidores de fosfodiesterase tipo 5 (iPDE5) são usados para o tratamento de disfunção erétil (DE) e são grande alvo de falsificação. A falsificação desse tipo de medicamento é atribuída à demanda pelo produto por pessoas sem receituário médico, que é obrigatório para venda deste tipo de medicamento no Brasil e em outros países. Entre os motivos que levam ao uso desse medicamento sem acompanhamento médico estão o uso recreativo por pessoas sem quadro clínico característico de DE, que buscam aumentar a duração da ereção, e por pessoas que apresentam quadro clínico de DE, mas possuem alguma condição médica de contraindicação ao uso de iPDE5 ou se sentem constrangidas ao procurarem assistência médica⁹⁴.

Além desses motivos, o alto preço dos medicamentos patenteados também favorece o mercado de falsificações desses produtos⁹⁴. Isso foi evidenciado por Ames e Souza⁹⁵ em um artigo publicado em 2012, pouco após a quebra da patente do Viagra® (citrato de sildenafil) no Brasil. Com a quebra da patente em 2010, o preço do Viagra diminuiu e medicamentos genéricos, mais baratos, passaram a ser produzidos. Como reflexo, o número de apreensões de Viagra falsificados diminuiu, enquanto o número de apreensões de Cialis® (tadalafila), ainda patenteados em 2012, aumentou.

Como descrito no trabalho de Ames e Souza, 66% dos medicamentos falsificados apreendidos pela Polícia Federal entre 2007 e 2010 foram medicamentos usados no tratamento de DE⁹⁵. Esse cenário não é exclusivo do Brasil. Na Operação Pangea, da Interpol, os medicamentos usados no tratamento de

DE estavam entre os mais apreendidos. Na Itália, 24% dos iPDE5 vendidos na internet são falsificados e 54% são ilegais (sem autorização de venda no país)⁹⁴.

Por ser uma das classes de medicamentos mais apreendidos, há uma grande demanda de análises periciais para verificar a autenticidade de amostras desse tipo.

Entre os medicamentos iPDE5, o citrato de sildenafil se destaca. Esse é o princípio ativo do Viagra, que foi o primeiro medicamento autorizado para tratamento de DE. A sildenafil foi sintetizada pela Pfizer na década de 1980 e patenteada em 1990. Sua estrutura química é mostrada no Anexo. Inicialmente, a sildenafil foi proposta para tratamento de doenças cardiovasculares. Durante os testes clínicos para tratamento de angina, percebeu-se que o medicamento não era adequado para esse fim devido ao pequeno tempo de meia-vida do composto na corrente sanguínea, além de interação medicamentosa com nitratos, que também são usados no tratamento de angina. Contudo, um efeito colateral relatado nos testes clínicos foi a ereção peniana nos pacientes⁹⁶.

A partir de então, vários estudos clínicos foram feitos para testar a eficiência da sildenafil no tratamento de DE. O medicamento, citrato de sildenafil, foi então registrado como Viagra e autorizado para o tratamento de DE em 1998. Posteriormente, foi descoberto o potencial da sildenafil para o tratamento de hipertensão pulmonar. Isso levou à concessão de prorrogação da patente da Pfizer⁹⁶. No Brasil, a patente do citrato de sildenafil foi quebrada em 2010, em um processo judicial. A partir de então, medicamentos genéricos passaram a ser produzidos, além de outras marcas serem registradas para o citrato de sildenafil.

Entre as técnicas usadas para identificar falsificação de comprimidos de citrato de sildenafil encontram-se espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS)⁹⁷, relaxometria de RMN⁹⁸, LC-MS⁹⁹, cromatografia líquida com

detecção por arranjo de diodos (CL-DAD)^{99;100}, fluorescência de raios-X¹⁰¹ e espectroscopia NIR¹⁰². A ATR-FTIR também já foi utilizada para identificação de comprimidos de citrato de sildenafil falsificados. Coelho Neto e Lisboa⁹³ desenvolveram um método de identificação manual dos componentes da amostra pela visualização do espectro de infravermelho. Porém, esse método depende da interpretação visual e do conhecimento espectral do analista, sendo altamente subjetivo.

Nesta aplicação objetivou-se desenvolver um método de análise de classificação supervisionada para verificar a autenticidade de comprimidos de citrato de sildenafil usando ATR-FTIR e SIMCA.

5.2. Materiais e métodos

5.2.1. Equipamentos e programas

Para realização das análises espectroscópicas, foi utilizado um espectrofotômetro de infravermelho médio com transformada de Fourier e acessório de refletância total atenuada (ATR-FTIR) Thermo Nicolet™ iZ10 com fonte EverGlo, detector DLaTGS e módulo ATR Smart Orbit de reflexão única com cristal de diamante, presente na Seção Técnica de Física e Química Legal do Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Minas Gerais (IC-PCMG).

Os dados foram obtidos no programa OMNIC 9.1.27 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) e tratados no programa MATLAB, versão 7.13 (The MathWorks, Natick, MA, EUA), usando o pacote PLS Toolbox, versão 6.7.1 (Eigenvector Technologies, Manson, WA, EUA), que contém as rotinas para métodos de classificação supervisionada.

As identificações espectrais foram feitas por comparação com os arquivos da biblioteca de espectros de fármacos e excipientes da Seção Técnica de Física e Química Legal do IC-PCMG.

5.2.2. Amostras

Para essa aplicação, 45 amostras de comprimidos de citrato de sildenafil 50 mg, genéricos ou com marca registrada, de 5 produtores, foram compradas em estabelecimentos confiáveis. As amostras compradas foram dos produtores Brainfarma, EMS, Eurofarma, Pfizer e Sandoz. Essas amostras tiveram sua autenticidade confirmada pelos lotes de produção, junto à ANVISA. Os lotes, marcas e produtores das amostras estão relacionados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Relação de amostras com indicação de produtor, marca, nome e lotes

Produtor	Marca	Nome	Lotes
Brainfarma	Neo Química	Viríneo	LB15M2011
	Neo Química	Citrato de sildenafil	LB15F0883; LB15F1408
EMS	Legrand	Ahzul	L717830
	EMS	Suvia	L740630
	EMS	Citrato de sildenafil	L711389
	Germed	Citrato de sildenafil	L659794
Eurofarma	Eurofarma	Dejavú	L378306; L413013
	Eurofarma	Citrato de sildenafil	L403677
	Althaia	Citrato de sildenafil	L15100012
Pfizer	Pfizer	Viagra	L404834020; L50483505E
	Teuto	Viasil	L890617
	Teuto	Citrato de sildenafil	L8902012; L890312
Sandoz	Sandoz	Citrato de sildenafil	LFE2408

Além das amostras compradas, 38 amostras apreendidas no estado de Minas Gerais, entre 2014 e 2016, foram consideradas suspeitas. Essas amostras foram analisadas pela perícia no IC-PCMG. A análise foi realizada por inspeção visual da embalagem e do comprimido, e por identificação do princípio ativo por método padronizado usando GC-MS. Foi constatado pela perícia que 28 amostras eram autênticas e 10 amostras eram falsas. Destaca-se que todas as amostras falsas tinham identificação de Viagra.

Assim, as amostras foram divididas em três conjuntos: o conjunto “original” se refere às amostras compradas, o conjunto “autêntico” é composto pelas amostras suspeitas cuja autenticidade foi verificada pela perícia, e o conjunto “falso” é composto pelas amostras suspeitas que foram consideradas falsas pela perícia.

Todas as amostras foram cuidadosamente descascadas com uma espátula para remover o revestimento do comprimido. Os comprimidos produzidos pela Sandoz não possuem revestimento, logo não passaram por essa etapa. Após a remoção do revestimento, o núcleo do comprimido foi triturado e o pó foi armazenado em tubos tipo Eppendorf. Posteriormente, o pó foi colocado no acessório ATR-FTIR para registrar o espectro.

5.2.3. Modelos quimiométricos

A autenticidade de produtos, quando usados métodos quimiométricos, é melhor avaliada por modelagem de classes, como no método SIMCA³⁵, sendo este o método escolhido para esse trabalho^{40;103}. A comparação de resultados entre os métodos SIMCA e PLS-DA é comum. Porém, não foi possível construir um modelo PLS-DA devido ao pequeno número de amostras falsas, o que impediu a criação de

uma segunda classe, necessária em modelos discriminantes. Dessa forma, não foi feita a comparação entre os métodos SIMCA e PLS-DA.

Como descrito, o número de amostras falsas disponíveis para este trabalho foi muito pequeno para fazer o treinamento de um modelo supervisionado para essa classe. Por isso, fez-se a modelagem da classe de comprimidos originais de citrato de sildenafil. Por definição, uma amostra não pode ser, ao mesmo tempo, original e falsa. Com isso, as amostras classificadas como não pertencentes à classe original são atribuídas como falsas.

Assim, um modelo SIMCA de classe única (*one-class modeling*) foi construído com a classe de amostras “original”. As amostras suspeitas, tanto autênticas quanto falsificadas, foram preditas pelo modelo para sua validação. Para esta classificação, usou-se o nível de confiança de 95%.

Todos os espectros foram pré-processados com SNV, para minimizar o efeito de espalhamento multiplicativo da radiação, como é usual para amostras sólidas. Os dados foram centrados na média da classe modelada.

O modelo PCA para a classe “Original” foi construído com as 45 amostras. O número de PC foi escolhido analisando o gráfico de autovalores, objetivando o equilíbrio entre o número de PC e a variância explicada pelo modelo. A análise dos pesos do modelo PCA foi feita para demonstrar a relevância química do modelo. As atribuições espectrais foram relacionadas com os componentes dos comprimidos descritos nas bulas dos medicamentos.

Após a classificação das amostras suspeitas, estimaram-se as figuras de mérito TFN, TFP e TCF, que refletem a veracidade do método, e TSN e TSL, que representam sua incerteza. As FOM foram calculadas apenas para a classe “Falsas”, pois os valores para a classe “Autênticas” são complementares.

5.3. Resultados e discussão

5.3.1. Treinamento do modelo SIMCA

Os espectros das amostras originais e suspeitas são mostrados nas Figuras 5.1 e 5.2, respectivamente.

Figura 5.1 – Espectros ATR-FTIR das amostras originais de citrato de sildenafil

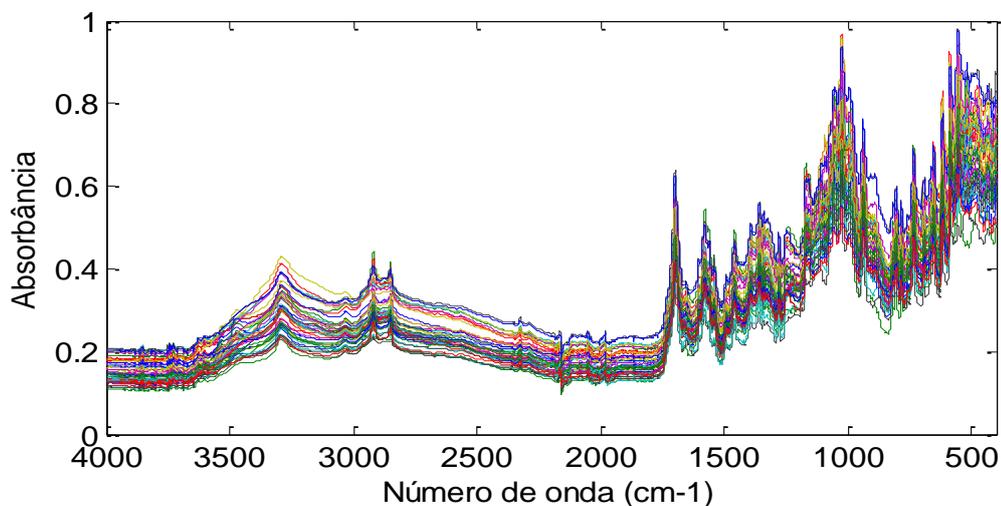
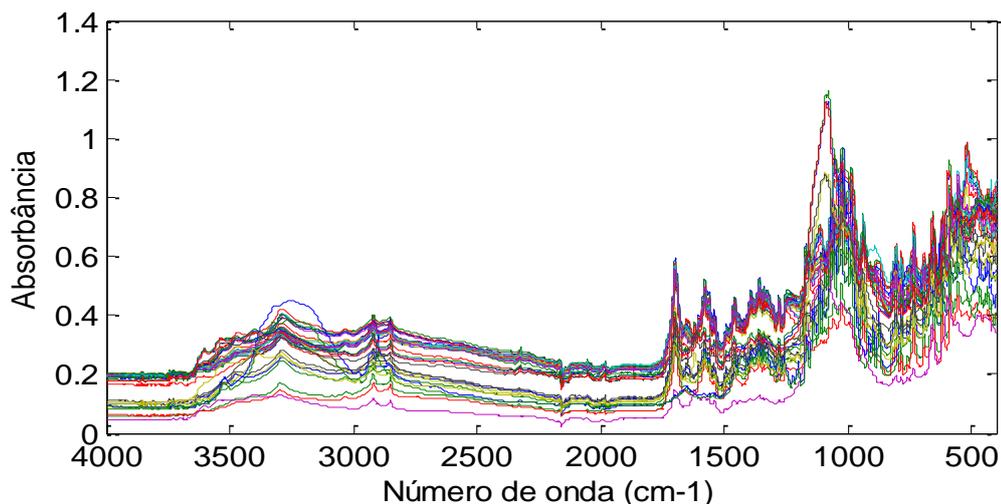


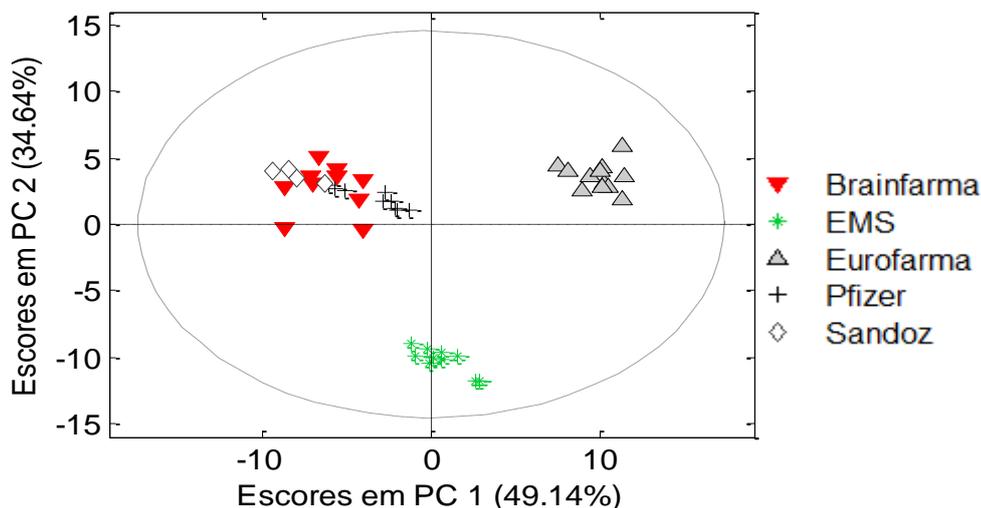
Figura 5.2 – Espectros ATR-FTIR das amostras suspeitas de citrato de sildenafil



O modelo SIMCA foi construído apenas com uma classe, referente às amostras originais. O modelo PCA para essa classe foi construído com duas PC e explicou 83,78% da variância espectral X . A representação desse modelo, pelo

gráfico de escores em PC1 *versus* PC2 é mostrada na Figura 5.3. Nessa figura, as amostras foram identificadas de acordo com os 5 produtores para facilitar a interpretação das informações.

Figura 5.3 – Escores em PC1 e PC2 no modelo PCA para classe “original”.



Pela análise dos escores, observou-se a separação em 3 grupos de amostras. As amostras produzidas pela Eurofarma apresentam valores positivos de escores em PC1 e PC2, e as amostras da EMS se agruparam com valores negativos em PC2. As amostras das demais marcas não tiveram separação significativa, ficando agrupadas com valores negativos de escores em PC1 e positivos em PC2. Para explicar a separação desses grupos, interpretou-se os vetores de pesos das PC (Figura 5.4), comparando-os com os espectros de referência da sildenafil e dos excipientes descritos nas bulas dos medicamentos.

Os excipientes indicados nas bulas dos medicamentos estão relacionados na Tabela 5.2 e os espectros de referência são mostrados na Figura 5.5. Os excipientes presentes no revestimento dos comprimidos foram desconsiderados, uma vez que estes foram removidos, fisicamente, antes das análises. Os excipientes usados no revestimento são: hipromelose, dióxido de titânio, macrogol, corante índigo laca alumínio, talco, triacetina e sacarina.

Figura 5.4 – Pesos em (a) PC1 e (b) PC2 no modelo PCA para a “classe original”.

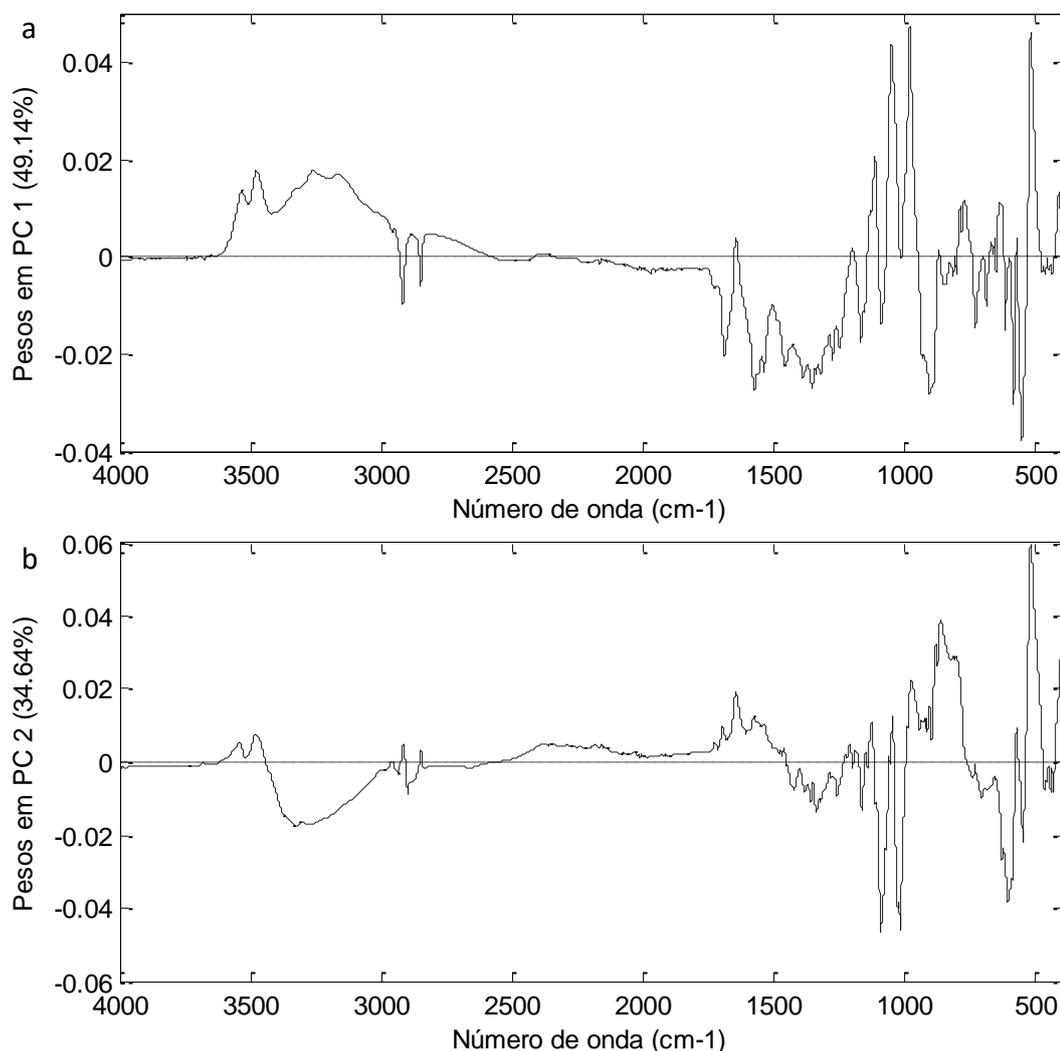


Tabela 5.2 – Principais excipientes descritos nas bulas dos medicamentos, por produtor.

Produtor	Excipientes
Brainfarma	Celulose microcristalina, fosfato de cálcio dibásico, croscarmelose, estearato de magnésio
EMS	Celulose microcristalina, lactose, croscarmelose, dióxido de silício, estearato de magnésio
Eurofarma	Celulose microcristalina, dióxido de silício, croscarmelose, fosfato de cálcio dibásico, estearato de magnésio
Pfizer	Celulose microcristalina, fosfato de cálcio dibásico, croscarmelose, estearato de magnésio
Sandoz	Celulose microcristalina, fosfato de cálcio dibásico, copovidona, croscarmelose, estearato de magnésio

Figura 5.5 – Espectros ATR-FTIR de referência de sildenafil, celulose, fosfato de cálcio dibásico, carmelose, estearato de magnésio, lactose, dióxido de silício e povidona

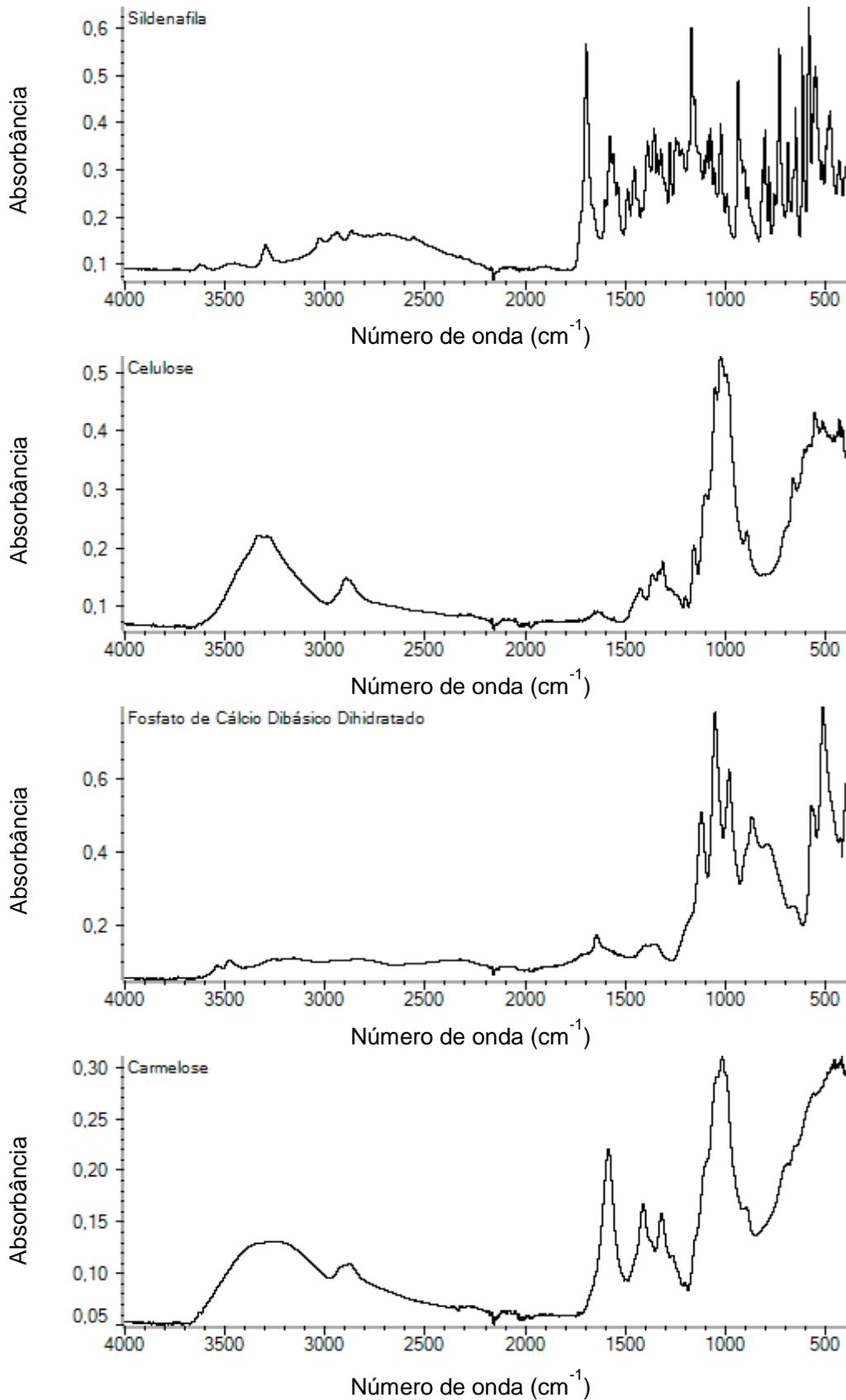
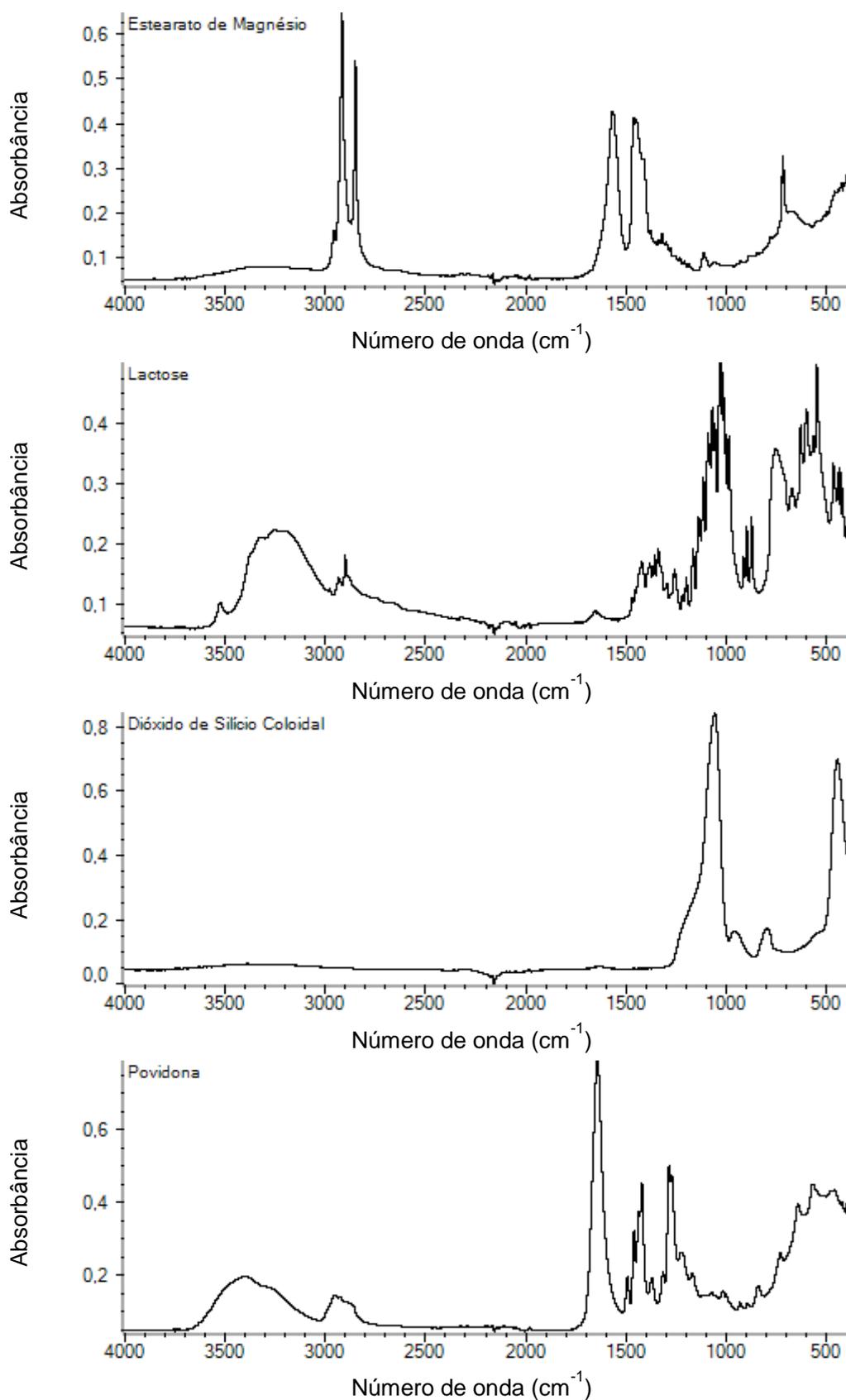


Figura 5.5 (cont.) – Espectros ATR-FTIR de referência de sildenafila, celulose, fosfato de cálcio dibásico, carmelose, estearato de magnésio, lactose, dióxido de silício e povidona



Na comparação entre o vetor de pesos em PC1 e os espectros de referência, percebe-se uma grande similaridade entre os valores positivos de pesos e o espectro de fosfato de cálcio dibásico. A região entre 1150 e 950 cm^{-1} é quase idêntica nos dois casos, sendo constituída de 3 picos, centrados em 1120, 1054 e 983 cm^{-1} . Além dessa região, os picos em 870 e 518 cm^{-1} e as bandas centradas em 3533 e 3477 são similares aos dois vetores. Essa observação sugere que as amostras com maiores escores em PC1 tenham maior contribuição espectral de fosfato de cálcio dibásico, o que é observado nos espectros das amostras da Eurofarma.

Entre os valores negativos de pesos em PC1, a associação se dá com os espectros de sildenafil e estearato de magnésio. As regiões entre 1600 e 1150 cm^{-1} e 750 e 540 cm^{-1} do vetor de pesos em PC1 possui vários picos negativos em números de onda coincidentes com os principais picos do espectro de sildenafil, como 1575, 1356, 1279, 1172, 730, 586 e 553 cm^{-1} . Já a comparação com estearato de magnésio se dá pela presença dos picos em 2917, 2850, 1569 e 1463 cm^{-1} , característicos do estearato de magnésio.

A sildenafil, como princípio ativo desses medicamentos, deve estar na mesma faixa de concentração, independente do fabricante. Logo, a razão para que o espectro da sildenafil seja usado para diferenciar amostras não deve ser baseada na diferença de concentração desse fármaco nas amostras. Assim, uma possível causa para a distinção em PC1, que atribuiu valores negativos de pesos à sildenafil, é a intensidade espectral de fosfato de cálcio dibásico observada nas amostras da Eurofarma, que pode estar mascarando os sinais referentes à sildenafil nos espectros dos produtos desse fabricante. A mesma lógica pode ser

aplicada ao estearato de magnésio, apesar da sua concentração não ser necessariamente a mesma nas diferentes marcas.

Para a análise de pesos em PC2, a identificação espectral dos valores negativos mostra similaridade com o espectro do excipiente lactose. Uma larga banda entre 3400 e 3000 cm^{-1} e os picos em 1166, 1093, 1018 e 605 cm^{-1} são as principais variáveis do vetor de pesos com valores negativos e estão presentes no espectro de referência da lactose. A interpretação disso é que amostras que contenham lactose devem ter menores valores de escores em PC2. Isso foi observado no gráfico de escores, pois, as amostras da EMS foram as únicas que apresentaram escores negativos e essa é a única fabricante que utiliza lactose como excipiente, dentro do universo das amostras analisadas.

Em relação aos valores positivos de pesos em PC2, observou-se contribuição dos espectros de fosfato de cálcio dibásico e do estearato de magnésio através dos picos já atribuídos em PC1. Os picos em 2917 e 2850 cm^{-1} , característicos do estearato de magnésio, podem ser vistos em destaque nos pesos de PC2. Porém, os picos em 1569 e 1463 cm^{-1} não tiveram relevância para essa PC. Já em relação ao fosfato de cálcio dibásico, houve um pequeno deslocamento dos principais picos no vetor de pesos. Os picos com valores positivos de pesos em PC2 foram 1228, 1049, 978, 865 e 522 cm^{-1} . Esse deslocamento ocorreu devido à sobreposição de picos nos espectros de fosfato de cálcio dibásico e da lactose. Assim, os números de onda que foram importantes para a separação da PC2 não foram os que apresentam máximos de absorbância dos picos, mas variáveis desses picos em que haja menor sobreposição, levando ao deslocamento observado.

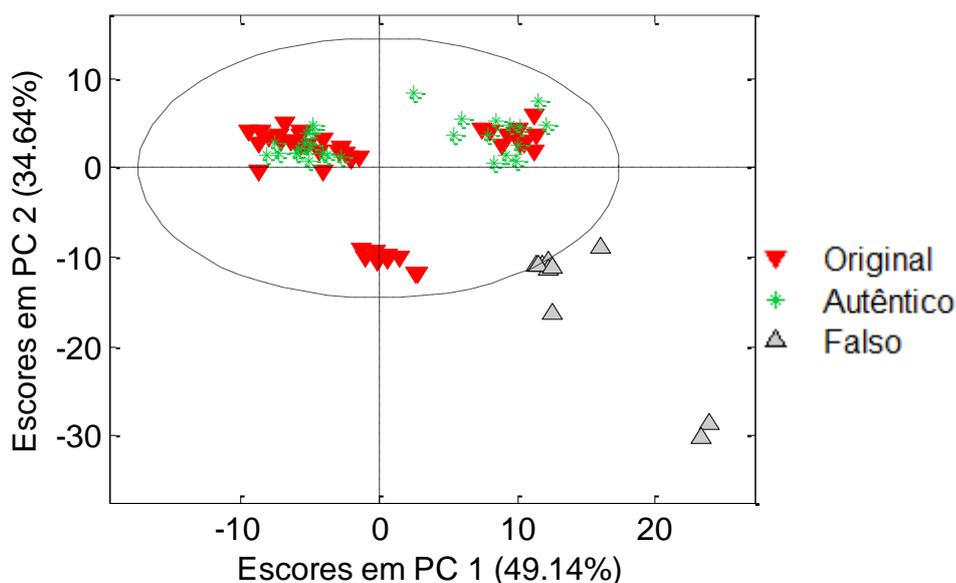
A distinção em PC2 relacionada ao fosfato de cálcio dibásico representou a maior parte dos valores positivos de pesos. Isso corrobora novamente com a

separação das amostras produzidas pela EMS, as quais apresentaram valores negativos de escores, pois, a EMS não utiliza fosfato de cálcio dibásico na composição desses medicamentos.

5.3.2. Predição de amostras suspeitas

Após construir o modelo PCA, o modelo SIMCA foi concluído e os limites para a classificação foram calculados com 95% de confiança. Em sequência, as amostras suspeitas foram analisadas pelo método. O gráfico de escores em PC1 *versus* PC2 para a classe original é mostrado na Figura 5.6.

Figura 5.6 - Escores em PC1 e PC2 no modelo PCA para classe “original”, com predição de amostras suspeitas.



No gráfico de escores, observa-se que todas as amostras que são falsas estão fora da elipse de confiança do modelo e foram, portanto, corretamente classificadas. Contudo, os resultados objetivos do método SIMCA (classificação) são baseados na probabilidade estimada de cada amostra pertencer à classe e essa probabilidade é calculada com base nos parâmetros Q e T² de Hotelling. Assim, o gráfico de probabilidade de pertencer à classe “original” e o gráfico de resíduos Q

versus T^2 são mostrados nas Figuras 5.7 e 5.8. Para facilitar a visualização e discussão dos dados, a Figura 5.8 apresenta, também, uma seção ampliada para a região dos limites de confiança.

Figura 5.7 – Probabilidade, por amostra, de pertencimento à classe “original”.

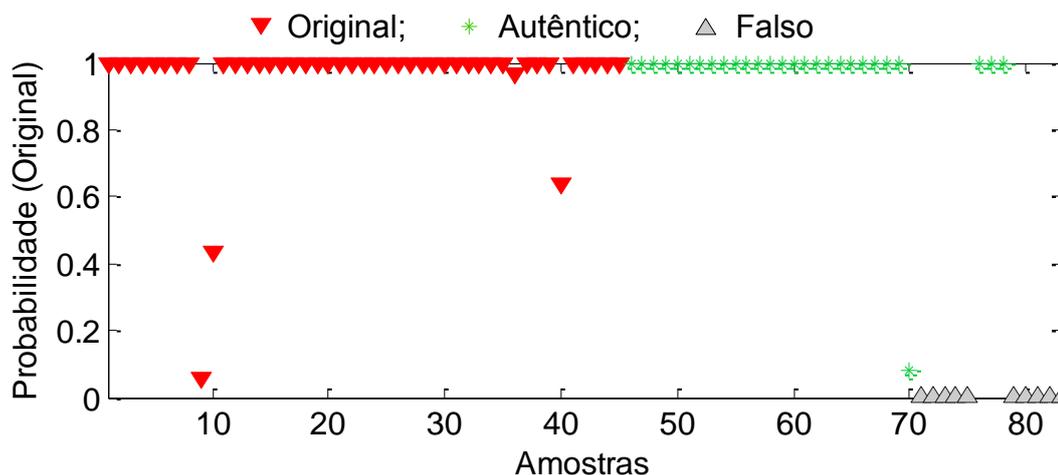
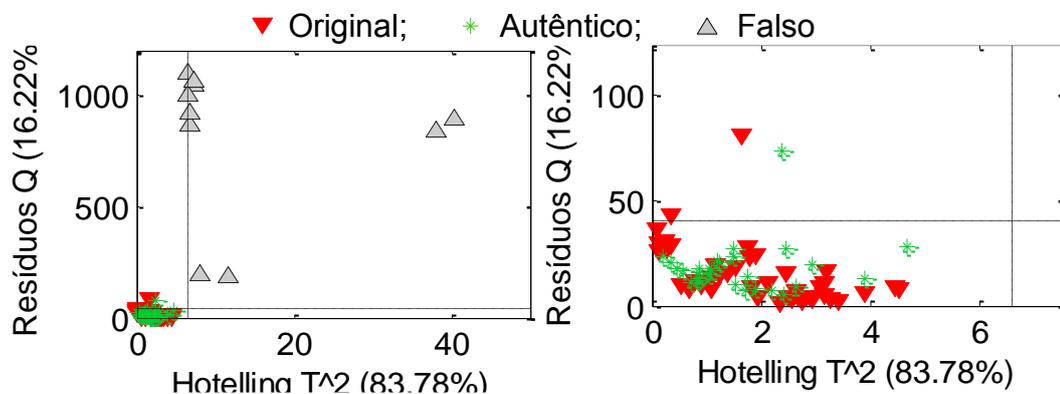


Figura 5.8 – Resíduos Q versus T^2 de Hotelling do modelo PCA para a classe “original”. Gráfico completo à esquerda e ampliado à direita.



A probabilidade calculada para as amostras originais e para as suspeitas autênticas foi exatamente 1 para quase todas as amostras dessas classes. Porém, duas amostras do conjunto “original” foram preditas como falsas. Essas amostras são da marca Virineo, produzida pela Brainfarma e são as únicas amostras analisadas dessa marca. Por isso, supõe-se que a composição de excipientes seja diferente quantitativamente e a quantidade de amostras usadas no modelo não foi

suficiente para incorporar essa informação. Os resíduos Q dessas amostras, observados na Figura 5.8, corroboram essa hipótese, pois são maiores que o limite de confiança estimado.

Entre as amostras que são falsas, não houve nenhuma classificação errada e a probabilidade dessas amostras serem originais é nula. Esse resultado é relevante, pois isso significa que não houve falso-negativo, para teste de falsificação. Como discutido na seção 3.3.2, falsos-negativos são indesejados em testes preliminares, enquanto falsos-positivos podem ser posteriormente verificados pelo método oficial.

A validação do método foi feita estimando TFP, TFN, TCF, TSN e TSL, que são mostradas na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Figuras de mérito estimadas para o modelo SIMCA, em porcentagem, para cada classe nos conjuntos de teste

Conjunto de teste (%)					
Classe	TFP	TFN	TCF	TSN	TSL
Autênticas	0,0	3,6	96,4	96,4	100,0
Falsas	3,6	0,0	96,4	100,0	96,4

TFP – taxa de falso positivo; TFN – taxa de falso negativo; TCF – taxa de confiabilidade; TSN – taxa de sensibilidade; TSL – taxa de seletividade.

A TCF do método, 96,4%, foi alta e indicou a eficiência do método para a classificação de amostras falsas.

5.4. Conclusões

O método desenvolvido para determinar a autenticidade de comprimidos de citrato de sildenafila apresentou bons parâmetros de mérito. Apenas com duas PC e uma única classe, nenhum falso-negativo foi observado e apenas 3 amostras foram identificadas como falso-positivo.

Ressalta-se que o método foi desenvolvido com poucas amostras originais e, assim, amostras de marcas diferentes das modeladas podem ser erroneamente classificadas como falsas. Para incorporar esse método como método oficial na rotina de um laboratório forense, amostras de todos os produtores e marcas diferentes devem ser incluídas na calibração do modelo. Ainda assim, o método pode ser usado como exame preliminar na rotina de laboratórios, reduzindo a quantidade de amostras que serão analisadas pelos métodos de referência, os quais são mais laboriosos.

O método SIMCA se mostrou eficiente para verificar a autenticidade das amostras, contornando a dificuldade prática de se encontrar amostras falsas que abrangessem todo o universo de falsificações. Essa característica do SIMCA é bastante útil, não apenas para análises forenses, mas também para outros tipos de verificação de autenticidade, como registro de localidade de origem para alimentos e bebidas.

6. Conclusões gerais

As matrizes estudadas representam parte da demanda de análises periciais dos laboratórios de química. Assim, os métodos desenvolvidos se adequam à rotina desses laboratórios e fornecem resultados objetivos, desejáveis aos métodos forenses.

Os métodos desenvolvidos nos Capítulos 3 e 4 se mostraram eficientes para lidar com as NPS estudadas. A análise de NPS ainda é um desafio, pois, as pequenas mudanças presentes nas moléculas de novas drogas podem levar a resultados errados, inclusive em métodos de referência. Por isso, a capacidade de incluir novas classes nos modelos PLS-DA é ainda mais desejável para poder estender o uso desses métodos.

O método SIMCA, usado no Capítulo 5, se mostrou adequado para a verificação de autenticidade usando um modelo de classe única. A capacidade de classificação do modelo permitiu até distinguir amostras originais com padrão espectral diferente devido à composição de excipientes. Novamente, ressalta-se a necessidade de um conjunto de amostras representativo das amostras modeladas como autênticas.

A partir dos métodos desenvolvidos e da literatura recente, pode-se concluir que a quimiometria se apresenta como uma ferramenta muito útil para análises forenses. A análise multivariada possibilita extrair mais informações sobre as amostras usando técnicas de análises, principalmente espectroscópicas, que foram historicamente limitadas à análise de substâncias quase puras ou que passaram previamente por métodos de extração/separação.

Contudo, ainda é necessária maior divulgação da quimiometria e capacitação para que os próprios peritos possam usar essa ferramenta nas análises forenses.

Mesmo os órgãos que lidam diretamente com esse tipo de análise, como o SWGDRUG, ainda não definiram oficialmente o uso da quimiometria para a análise de drogas. Atualmente, um comitê do SWGDRUG está avaliando o uso de quimiometria em análises forenses.

Nas três aplicações desenvolvidas nesta tese, a técnica instrumental usada foi ATR-FTIR. Essa técnica ganhou grande apelo para análises forenses devido à sua praticidade para aquisição de dados. Hoje, todos os laboratórios de perícia química da Polícia Federal e muitos dos laboratórios das perícias estaduais possuem espectrômetros ATR-FTIR. Assim, esses métodos podem ser aplicados em diversos laboratórios forenses.

7. Referências

- 1 Fórum Brasileiro de Segurança Pública, **Anuário Brasileiro de Segurança Pública**. São Paulo, SP, 2013.
- 2 Fórum Brasileiro de Segurança Pública, **Anuário Brasileiro de Segurança Pública**. São Paulo, SP, 2016.
- 3 VELHO, J. A.; GEISER, G. C.; ESPÍNDULA, A. **Ciências Forenses: Uma introdução às principais áreas da criminalística moderna**. 3ª ed. Campinas, SP: Millennium Editora, 2017.
- 4 BRASIL. **Código de Processo Penal (Decreto-Lei nº 3.689 de 03 de outubro de 1941)**. Brasília, DF, 1941.
- 5 PASSAGLI, M. F. **Toxicologia Forense: Teoria e Prática**. 4ª ed. Campinas, SP: Millenium Editora, 2013.
- 6 CAROD-ARTAL, F. J. Hallucinogenic drugs in pre-Columbian Mesoamerican cultures. **Neurologia**, 30, p. 42-49, 2015.
- 7 DUARTE, D. F. Opium and opioids: a brief history; Uma breve história do ópio e dos opióides. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, 55, p. 135-146, 2005.
- 8 ANDERSON, B. T.; LABATE, B. C.; MEYER, M.; TUPPER, K. W.; BARBOSA, P. C. R.; GROB, C. S.; DAWSON, A.; MCKENNA, D. Statement on ayahuasca. **International Journal of Drug Policy**, 23, p. 173-175, 2012.
- 9 United Nations. **Conference on Psychotropic Substances, 1971**. Viena, Austria, 1971.
- 10 UNODC, United Nations Office on Drug and Crime. This day in history: signature of the Convention on Psychotropic Substances of 1971. 2009. Disponível em: < <http://www.unodc.org/unodc/en/frontpage/this-day-in-history-the-1971-convention-on-psychotropic-substances.html> >. Acesso em: 20 de dezembro de 2017.
- 11 ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria SVS/MS nº 344 de 12 de maio de 1998**. Brasília, DF, 1998.
- 12 ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Anvisa inclui 21 substâncias em lista de drogas proibidas** 2014. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/anvisa-inclui-21-substancias-em-lista-de-drogas-proibidas/219201/ > Acesso em: 20 de dezembro de 2017.
- 13 UNODC, United Nations Office on Drug and Crime. **World Drug Report 2017**. New York, NY, Estados Unidos da América, 2017.

- 14 ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Orientação sobre a nova forma de classificação de substâncias proscritas por classes estruturais do grupo canabinoides sintéticos**. Brasília, DF, 2017.
- 15 BRANCHEK, T. A.; BLACKBURN, T. P. Trace amine receptors as targets for novel therapeutics: legend, myth and fact. **Current Opinion in Pharmacology**, 3, p. 90-97, 2003.
- 16 HOU, Y. Y.; CHENG, B. F.; ZHOU, M. G.; FANG, R. P.; JIANG, M.; HOU, W. B.; BAI, G. Searching for Synergistic Bronchodilators and Novel Therapeutic Regimens for Chronic Lung Diseases from a Traditional Chinese Medicine, Qingfei Xiaoyan Wan. **Plos One**, 9, p. e113104, 2014.
- 17 SHULGIN, A.; SHULGIN, A. **Pihkal: A Chemical Love Story**. Berkeley, CA, Estados Unidos da América: Transform Press, 1991.
- 18 PiHKAL info. Disponível em: < <http://pihkal.info> >. Acesso em: 20 de dezembro de 2017.
- 19 KELLY, J. P. Cathinone derivatives: A review of their chemistry, pharmacology and toxicology. **Drug Testing and Analysis**, 3, p. 439-453, 2011.
- 20 VEARRIER, D.; GREENBERG, M. I.; MILLER, S. N.; OKANEKU, J. T.; HAGGERTY, D. A. Methamphetamine: History, Pathophysiology, Adverse Health Effects, Current Trends, and Hazards Associated with the Clandestine Manufacture of Methamphetamine. **Disease-a-Month**, 58, p. 38-89, 2012.
- 21 ZAWILSKA, J. B.; WOJCIESZAK, J. alpha-Pyrrolidinophenones: a new wave of designer cathinones. **Forensic Toxicology**, 35, p. 201-216, 2017.
- 22 WHO. World Health Organization. **Global Surveillance and Monitoring System for substandard and falsified medical products**. World Health Organization. Geneva, Suíça, 2017.
- 23 EAASM. European Alliance for Access to Safe Medicines. **The counterfeiting superhighway**. Surrey, Inglaterra, 2008.
- 24 INTERPOL. Millions of medicines seized in largest INTERPOL operation against illicit online pharmacies. 25 de setembro de 2017. Disponível em: < <https://www.interpol.int/News-and-media/News/2017/N2017-119> >. Acesso em: 20 de dezembro de 2017.
- 25 HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6a. Porto Alegre, Brasil: Bookman, 2009.
- 26 PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introdução à Espectroscopia**. São Paulo/SP, Brasil: Cengage Learning, 2010

- 27 MOROS, J.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Vibrational spectroscopy provides a green tool for multi-component analysis. **TrAC, Trends in Analytical Chemistry**, 29, p. 578-591, 2010.
- 28 HERSCHEL, W. Experiments on the refrangibility of the invisible rays of the sun. **Philosophical Transaction of the Royal Society**, 90, p. 255-283, 1800.
- 29 PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 14, p. 198-219, 2003.
- 30 SWGDRUG, Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs **SWGDRUG Recommendations v7.0** 2014.
- 31 SWGDRUG, Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs **Supplemental Document SD-2 for part IVB - Quality Assurance/Validation of Analytical Methods** 2009.
- 32 HARVEY, D. **Analytical Chemistry 2.0** 2009. Disponível em: <
http://dpuadweb.depauw.edu/harvey_web/eTextProject/version_2.0.html >. Acesso em: 20 de dezembro de 2017.
- 33 BRERETON, R. G. **Applied Chemometrics for Scientists**. Chichester, Inglaterra: Wiley, 2007.
- 34 INTERNATIONAL CHEMOMETRICS SOCIETY (ICS). Disponível em: <
<http://www.namics.nysaes.cornell.edu/> >. Acesso em: 20 de dezembro de 2017.
- 35 OLIVERI, P.; DOWNEY, G. Multivariate class modeling for the verification of food-authenticity claims. **TrAC, Trends in Analytical Chemistry**, 35, p. 74-86, 2012.
- 36 BRERETON, R. G. One-class classifiers. **Journal of Chemometrics**, 25, p. 225-246, 2011.
- 37 BRERETON, R. G.; LLOYD, G. R. Partial least squares discriminant analysis: taking the magic away. **Journal of Chemometrics**, 28, p. 213-225, 2014.
- 38 WOLD, S. Pattern recognition by means of disjoint principal components models. **Pattern Recognition**, 8, p. 127-139, 1976.
- 39 SENA, M. M.; ALMEIDA, M. R.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Multivariate Statistical Analysis and Chemometrics. Em: FRANCA, A. S.; NOLLET, L. M. L. **Spectroscopic Methods in Food Analysis**. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2017. Cap. 10.
- 40 RODIONOVA, O. Y.; TITOVA, A. V.; POMERANTSEV, A. L. Discriminant analysis is an inappropriate method of authentication. **TrAC, Trends in Analytical Chemistry**, 78, p. 17-22, 2016.

- 41 NEVES, D. B. J.; TALHAVINI, M.; BRAGA, J. W. B.; ZACCA, J. J.; CALDAS, E. D. Detection of Counterfeit Durateston (R) Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Partial Least Squares - Discriminant Analysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 28, p. 1288-1296, 2017.
- 42 MARTINS, A. R.; TALHAVINI, M.; VIEIRA, M. L.; ZACCA, J. J.; BRAGA, J. W. B. Discrimination of whisky brands and counterfeit identification by UV-Vis spectroscopy and multivariate data analysis. **Food Chemistry**, 229, p. 142-151, 2017.
- 43 GONDIM, C. D. S.; JUNQUEIRA, R. G.; CARVALHO DE SOUZA, S. V. Trends in implementing the validation of qualitative methods of analysis. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 70, p. 433-447, 2011.
- 44 LOPEZ, M. I.; CALLAO, M. P.; RUISANCHEZ, I. A tutorial on the validation of qualitative methods: From the univariate to the multivariate approach. **Analytica Chimica Acta**, 891, p. 62-72, 2015.
- 45 BRERETON, R. G. Consequences of sample size, variable selection, and model validation and optimisation, for predicting classification ability from analytical data. **TrAC, Trends in Analytical Chemistry**, 25, p. 1103-1111, 2006.
- 46 TRULLOLS, E.; RUISANCHEZ, I.; RIUS, F. X. Validation of qualitative analytical methods. **TrAC, Trends in Analytical Chemistry**, 23, p. 137-145, 2004.
- 47 LANGTON, S. D. CHEVENNEMENT, R.; NAGELKERKE, N.; LOMBARD, B. Analysing collaborative trials for qualitative microbiological methods: accordance and concordance. **International Journal of Food Microbiology**, 79, p. 175-181, 2002.
- 48 POKLIS, J. L.; RASO, S. A.; ALFORD, K. N.; POKLIS, A.; PEACE, M. R. Analysis of 25I-NBOMe, 25B-NBOMe, 25C-NBOMe and Other Dimethoxyphenyl-N- (2-Methoxyphenyl) Methyl Ethanamine Derivatives on Blotter Paper. **Journal of Analytical Toxicology**, 39, p. 617-623, 2015.
- 49 ZUBA, D.; SEKULA, K.; BUCZEK, A. 25C-NBOMe - New potent hallucinogenic substance identified on the drug market. **Forensic Science International**, 227, p. 7-14, 2013.
- 50 KUEPPERS, V. B.; COOKE, C. T. 25I-NBOMe related death in Australia: A case report. **Forensic Science International**, 249, p. E15-E18, 2015.
- 51 COELHO NETO, J. Rapid detection of NBOME's and other NPS on blotter papers by direct ATR-FTIR spectrometry. **Forensic Science International**, 252, p. 87-92, 2015.
- 52 LEDBERG, A. The interest in eight new psychoactive substances before and after scheduling. **Drug and Alcohol Dependence**, 152, p. 73-78, 2015.
- 53 EMCDDA, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Adiction **EMCDDA-Europol 2013 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA**. Luxembourg, Luxemburgo: Publications Office of the European Union, 2014.

- 54 FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN. **31 nya substanser klassas som narkotika eller hälsofarlig vara** 26 de janeiro de 2016. Disponível em: <<https://www.folkhalsomyndigheten.se/nyheter-och-press/nyhetsarkiv/2016/januari/31-nya-substanser-klassas-som-narkotika-eller-halsofarlig-vara/>> . Acesso em: 16 de março de 2018
- 55 MARINHO, P. A.; LEITE, E. M. A. Quantification of LSD in illicit samples by high performance liquid chromatography. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 46, p. 695-703, 2010.
- 56 BURRAI, L.; NIEDDU, M.; PALOMBA, M.; PIRISI, M.A.; Identification and quantitation of 4-bromo-2,5-dimethoxyamphetamine in seized blotters. **Legal Medicine**, 17, p. 56-59, 2015.
- 57 ROMAO, W.; SABINO, B. D.; BUENO, MIMS; VAZ, B. G.; JUNIOR, A. C.; MALDANER, A. O.; DE CASTRO, E. V. R.; LORDEIRO, R. A.; NASCENTES, C. C.; EBERLIN, M. N.; AUGUSTI, R. LSD and 9,10-dihydro-LSD Analyses in Street Drug Blotter Samples via Easy Ambient Sonic-Spray Ionization MassSpectrometry (EASI-MS). **Journal of Forensic Sciences**, 57, p. 1307-1312, 2012.
- 58 KAUPPILA, T. J.; ARVOLA, V.; HAAPALA, M.; POL, J.; AALBERG, L.; SAARELA, V.; FRANSSILA, S.; KOTIAHO, T.; KOSTIAINEN, R. Direct analysis of illicit drugs by desorption atmospheric pressure photolonization. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, 22, p. 979-985, 2008.
- 59 RISOLUTI, R.; MATERAZZI, S.; GREGORI, A.; RIPANI, L. Early detection of emerging street drugs by near infrared spectroscopy and chemometrics. **Talanta**, 153, p. 407-413, 2016.
- 60 SWGDRUG, Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs **SWGDRUG IR Library v1.2** 2015.
- 61 RINNAN, A.; VAN DEN BERG, F.; ENGELSEN, S. B. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. **TrAC, Trends in Analytical Chemistry**, 28, p. 1201-1222, 2009.
- 62 KENNARD, R. W.; STONE, L. A. COMPUTER AIDED DESIGN OF EXPERIMENTS. **Technometrics**, 11, p. 137-148, 1969.
- 63 ASTM INTERNATIONAL. **ASTM E1655-05 Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis**, West Conshohocken, PA, Estados Unidos da América, 2012.
- 64 STANKOVSKA, M.; GIGAC, J.; LETKO, M.; OPALENA, E. The effect of surface sizing on paper wettability and on properties of inkjet prints. **Wood Research**, 59, p. 67-76, 2014.

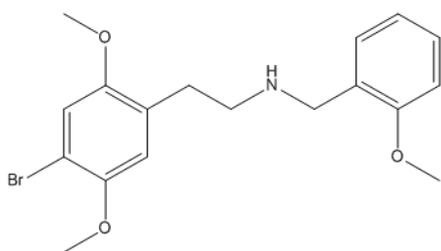
- 65 CHONG, I. G.; JUN, C. H. Performance of some variable selection methods when multicollinearity is present. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 78, p. 103-112, 2005.
- 66 ZUBA, D.; SEKULA, K. Analytical characterization of three hallucinogenic N-(2-methoxy)benzyl derivatives of the 2C-series of phenethylamine drugs. **Drug Testing and Analysis**, 5, p. 634-645, 2013.
- 67 MORI, S. Compositional analysis and infrared-spectra of styrene methyl-methacrylate random copolymers. **Journal of Applied Polymer Science**, 38, p. 547-555, 1989.
- 68 BROWN, C. D.; GREEN, R. L. Critical factors limiting the interpretation of regression vectors in multivariate calibration. **TrAC, Trends in Analytical Chemistry**, 28, p. 506-514, 2009.
- 69 EMCDDA, European Monitoring Center for Drugs and Drug Adiction **European Drug Report 2017: Trends and Developments**. Luxembourg, Luxemburgo: Publications Office of the European Union, 2017.
- 70 FREUDENMANN, R. W.; OXLER, F.; BERNSCHNEIDER-REIF, S. The origin of MDMA (ecstasy) revisited: the true story reconstructed from the original documents. **Addiction**, 101, p. 1241-1245, 2006.
- 71 VOGELS, N.; BRUNT, T. M.; RIGTER, S.; VAN DIJK, P.; VERVAEKE, H.; NIESINK, R. J. M. Content of ecstasy in the Netherlands: 1993-2008. **Addiction**, 104, p. 2057-2066, 2009.
- 72 FERIGOLO, M.; MEDEIROS, F. B.; BARROS, H. M. T. "Ecstasy": a pharmacological review. **Revista de Saúde Pública**, 32, p. 487-495, 1998.
- 73 VEGTING, Y.; RENEMAN, L.; BOOIJ, J. The effects of ecstasy on neurotransmitter systems: a review on the findings of molecular imaging studies. **Psychopharmacology**, 233, p. 3473-3501, 2016.
- 74 EMCDDA, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Adiction; EUROPOL. **EU drug markets report : a strategic analysis**. Luxembourg, Luxemburgo: Publications Office of the European Union, 2013.
- 75 TOGNI, L. R.; LANARO, R.; RESENDE, R. R.; COSTA, J. L. The variability of ecstasy tablets composition in Brazil. **Journal of Forensic Sciences**, 60, p. 147-151, 2015.
- 76 LANARO, R.; COSTA, J. L.; ZANOLLI, L. A.; CAZENAVE, S. O. S. Chemical identification of chlorophenylpiperazine in seized tablets. **Quimica Nova**, 33, p. 725-729, 2010.
- 77 WINSTOCK, A. R.; WOLFF, K.; RAMSEY, J. Ecstasy pill testing: harm minimization gone too far? **Addiction**, 96, p. 1139-1148, 2001.

- 78 CUYPERS, E.; BONNEURE, A. J.; TYTGAT, J. The use of presumptive color tests for new psychoactive substances. **Drug Testing and Analysis**, 8, p. 137-141, 2016.
- 79 MOREIRA, R. V.; DA COSTA, J. L.; MENEZES, M. R.; DE FARIA, D. L. A. Accessing the chemical profile of ecstasy tablets seized in São Paulo (Brazil) by FT-Raman Spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, 87, p. 104-110, 2016.
- 80 TSUJIKAWA, K.; YAMAMURO, T.; KUWAYAMA, K.; KANAMORI, T.; IWATA, Y. T.; MIYAMOTO, K.; KASUYA, F.; INOUE, H. Development of a Library Search-Based Screening System for 3,4-Methylenedioxymethamphetamine in Ecstasy Tablets Using a Portable Near-Infrared Spectrometer. **Journal of Forensic Sciences**, 61, p. 1208-1214, 2016.
- 81 CUMBA, L. R.; SMITH, J. P.; ZUWAY, K. Y.; SUTCLIFFE, O. B.; DO CARMOA, D. R.; BANKS, C. E. Forensic electrochemistry: simultaneous voltammetric detection of MDMA and its fatal counterpart "Dr Death" (PMA). **Analytical Methods**, 8, p. 142-152, 2016.
- 82 NGUYEN, T. A. H.; PHAM, T. N. M.; TA, T. T.; NGUYEN, X. T.; NGUYEN, T. L.; LE, T. H. H.; KOENKA, I. J.; SAIZ, J.; HAUSER, P. C.; MAI, T. D. Screening determination of four amphetamine-type drugs in street-grade illegal tablets and urine samples by portable capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. **Science & Justice**, 55, p. 481-486, 2015.
- 83 DUFFAU, B. E.; ROJAS, S.; DELGADO, L. A.; JOFRE, S. High Performance Thin Layer Chromatography method for analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in seized tablets. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, 3, p. 162-170, 2015.
- 84 ARGENTE-GARCIA, A.; JORNET-MARTINEZ, N.; HERRAEZ-HERNANDEZ, R.; CAMPINS-FALCO, P. A solid colorimetric sensor for the analysis of amphetamine-like street samples. **Analytica Chimica Acta**, 943, p. 123-130, 2016.
- 85 SWGDRUG, Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs **Monographs**. Disponível em: < swgdrug.org/monographs.htm >. Acesso em: 20 de dezembro de 2017.
- 86 RODRIGUES, N. V. S.; CARDOSO, E. M.; ANDRADE, M. V. O.; DONNICI, C. L.; SENA, M. M. Analysis of seized cocaine samples by using chemometric methods and FTIR spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 24, p. 507-517, 2013.
- 87 PAUL, S.; SUN, C. C. Lubrication with magnesium stearate increases tablet brittleness. **Powder Technology**, 309, p. 126-132, 2017.
- 88 COLE, C.; JONES, L.; MCVEIGH, J.; KICMAN, A.; SYED, Q.; BELLIS, M. Adulterants in illicit drugs: a review of empirical evidence. **Drug Testing and Analysis**, 3, p. 89-96, 2011.

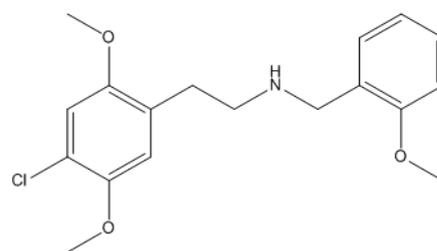
- 89 VANATTOU-SAIFOUDINE, N.; MCNAMARA, R.; HARKIN, A. Caffeine provokes adverse interactions with 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy') and related psychostimulants: mechanisms and mediators. **British Journal of Pharmacology**, 167, p. 946-959, 2012.
- 90 DREW, C. D. M.; KNIGHT, G. T.; HUGHES, D. T. D.; BUSH, M. Comparison of effects of d-(-)-ephedrine and l-(+)-pseudoephedrine on cardiovascular and respiratory systems in man. **British Journal of Clinical Pharmacology**, 6, p. 221-225, 1978.
- 91 LEE, J. S.; HAN, E. Y.; LEE, S. Y.; KIM, E. M.; PARK, Y. H.; LIM, M. A.; CHUNG, H. S.; PARK, J. H. Analysis of the impurities in the methamphetamine synthesized by three different methods from ephedrine and pseudoephedrine. **Forensic Science International**, 161, p. 209-215, 2006.
- 92 MIAO, L.; LIU, Y.; LI, H.; QI, Y. P.; LU, F. Two-dimensional correlation infrared spectroscopy applied to the identification of ephedrine and pseudoephedrine in illegally adulterated slimming herbal products. **Drug Testing and Analysis**, 9, p. 221-229, 2017.
- 93 COELHO NETO, J.; LISBOA, F. L. C. ATR-FTIR characterization of generic brand-named and counterfeit sildenafil- and tadalafil-based tablets found on the Brazilian market. **Science & Justice**, 57, p. 283-295, 2017.
- 94 GAUDIANO, M. C.; MANNA, L.; RODOMONTE, A. L.; BARTOLOMEI, M.; BERTOCCHI, P.; GALLINELLA, B.; ANTONIELLA, E.; MULERI, N.; CIVITELLI, G.; ALIMONTI, S.; ROMANINI, L.; RUFINI, L.; VALVO, L. A survey on illegal and counterfeit medicines for the treatment of erectile dysfunctions in Italy. **Journal of Sexual Medicine**, 9, p. 2130-2137, 2012.
- 95 AMES, J.; SOUZA, D. Z. Counterfeiting of drugs in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, 46, p. 154-159, 2012.
- 96 GHOFrani, H. A.; OSTERLOH, I. H.; GRIMMINGER, F. Sildenafil: from angina to erectile dysfunction to pulmonary hypertension and beyond. **Nature Reviews Drug Discovery**, 5, p. 689-702, 2006.
- 97 LANZAROTTA, A.; LORENZ, L.; BATSON, J. S.; FLURER, C. Development and implementation of a pass/fail field-friendly method for detecting sildenafil in suspect pharmaceutical tablets using a handheld Raman spectrometer and silver colloids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 146, p. 420-425, 2017.
- 98 WILCZYŃKI, S.; PETELEŃZ, M.; FLOREK-WOJCIECHOWSKA, M.; KULESZA, S.; BRYM, S.; BLONSKA-FAJFROWSKA, B.; KRUK, D. Verification of the authenticity of drugs by means of NMR relaxometry- Viagra (R) as an example. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 135, p. 199-205, 2017.
- 99 CUSTERS, D.; KRAKOWSKA, B.; DE BEER, J. O.; COURSELLE, P.; DASZYKOWSKI, M.; APERS, S.; DECONINCK, E. Testing of complementarity of PDA and MS detectors using chromatographic fingerprinting of genuine and

- counterfeit samples containing sildenafil citrate. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 408, p. 1643-1656, 2016.
- ¹⁰⁰ ORTIZ, R. S.; ANTUNES, M. V.; LINDEN, R. Determination of sildenafil citrate and tadalafil by ultra performance liquid chromatography with diode-array detection (UPLC-DAD). **Quimica Nova**, 33, p. 389-393, 2010.
- ¹⁰¹ ORTIZ, R. S.; MARIOTTI, K. C.; SCHWAB, N. V.; SABIN, G. P.; ROCHA, W. F. C.; DE CASTRO, E. V. R.; LIMBERGER, R. P.; MAYORGA, P.; BUENO, M. I. M. S.; ROMAO, W. Fingerprinting of sildenafil citrate and tadalafil tablets in pharmaceutical formulations via X-ray fluorescence (XRF) spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 58, p. 7-11, 2012.
- ¹⁰² ANZANELLO, M.; FOGLIATTO, F.; MARCELO, M. C. A.; POZEBON, D.; FERRAO, M. F. Wavelength selection framework for classifying food and pharmaceutical samples into multiple classes. **Journal of Chemometrics**, 30, p. 346-353, 2016.
- ¹⁰³ TEODORO, J. A. R.; PEREIRA, H. V.; CORREIA, D. N.; SENA, M. M.; PICCIN, E.; AUGUSTI, R. Forensic discrimination between authentic and counterfeit perfumes using paper spray mass spectrometry and multivariate supervised classification. **Analytical Methods**, 9, p. 4979-4987, 2017.

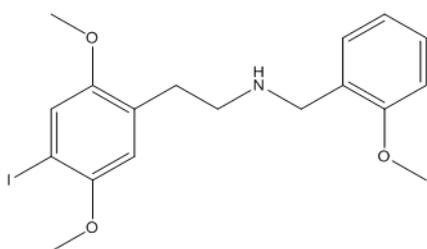
ANEXO – Estrutura química das moléculas estudadas



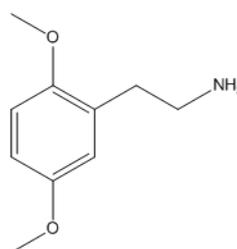
25B-NBOMe



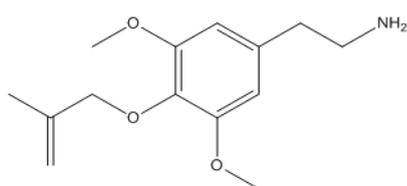
25C-NBOMe



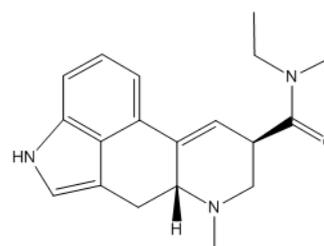
25I-NBOMe



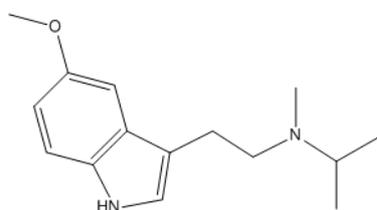
2C-H



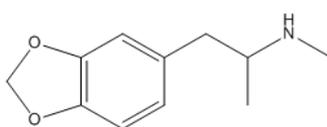
MAL



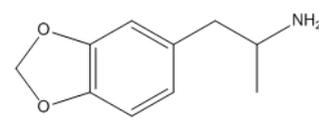
LSD



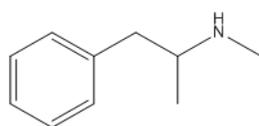
5-MeO-MIPT



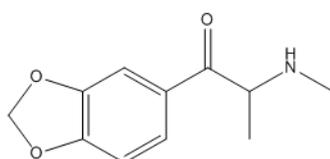
MDMA



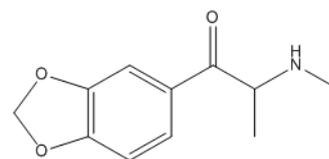
MDA



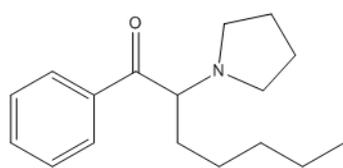
Metanfetamina



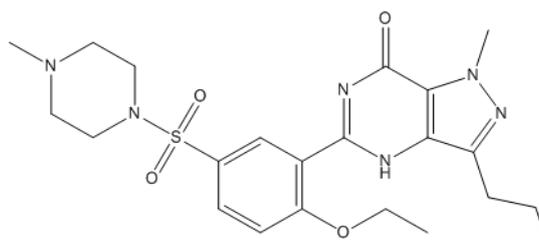
Metilona



Etilona



PV-8



Sildenafil