

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE FARMÁCIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Contribuição ao estudo forense de medicamentos anabolizantes através da aplicação de ferramentas espectroscópicas, cromatográficas e quimiométricas

**VANESSA FERREIRA LEMOS**

Porto Alegre, 2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Contribuição ao estudo forense de medicamentos anabolizantes através da aplicação de ferramentas espectroscópicas, cromatográficas e quimiométricas

Dissertação apresentada por **Vanessa Ferreira Lemos** para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Pereira Limberger

Coorientador: Dr. Rafael Scorsatto Ortiz

Porto Alegre, 2020

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 30.03.2020, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Andreas Sebastian Loureiro Mendez

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Dra. Máira Kerpel dos Santos

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Forense (INCT Forense)

Prof. Dr. Marco Flores Ferrão

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

#### CIP - Catalogação na Publicação

Lemos, Vanessa Ferreira

Contribuição ao estudo forense de medicamentos anabolizantes através da aplicação de ferramentas espectroscópicas, cromatográficas e quimiométricas / Vanessa Ferreira Lemos. -- 2020.

172 f.

Orientadora: Renata Pereira Limberger.

Coorientador: Rafael Scorsatto Ortiz.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Falsificação de medicamentos. 2. Imagem química. 3.  $\mu$ ATR-FTIR. 4. GC/MS/FID. 5. Quimiometria. I. Limberger, Renata Pereira, orient. II. Ortiz, Rafael Scorsatto, coorient. III. Título.



Este trabalho foi desenvolvido sob a orientação da Profa. Dra. Renata Pereira Limberger e coorientação do Dr. Rafael Scorsatto Ortiz, no Laboratório de Análises e Pesquisa em Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (LABTOXICO/FACFAR/UFRGS), em parceria com Setor Técnico-Científico da Superintendência Regional da Polícia Federal do Rio Grande do Sul (SETEC/SR/PF/RS) e com o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Forense (INCT Forense), os quais disponibilizaram os equipamentos e os materiais necessários para a realização dos experimentos práticos.



## **AGRADECIMENTOS**

À Profa. Dra. Renata Pereira Limberger e ao Perito Criminal Federal Dr. Rafael Scorsatto Ortiz, pela oportunidade, confiança e valiosas contribuições ao desenvolvimento desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Andreas Sebastian Loureiro Mendez, à Dra. Máira Kerpel dos Santos e ao Prof. Dr. Marco Flores Ferrão, por aceitarem compor a banca examinadora dessa dissertação e pelas excelentes contribuições.

Aos servidores do Setor Técnico Científico da Polícia Federal do Rio Grande do Sul, principalmente ao grupo de laboratório, pelos ensinamentos, carinho e compreensão ao longo de todos esses anos de convívio. Em especial, à Perita Criminal Federal Dra. Carina Maria Bello de Carvalho, pelo auxílio constante e pela parceria cultivada ao longo desses anos.

Aos colegas do Laboratório de Análises e Pesquisas em Toxicologia da Faculdade de Farmácia da UFRGS, por toda a ajuda, companheirismo e compartilhamento de experiências, angústias e alegrias.

A todos os meus professores e colegas do Curso Superior de Tecnologia em Toxicologia Analítica da UFCSPA, por me proporcionarem crescimento acadêmico e profissional, além de despertarem o meu amor pela ciência.

Aos colegas do Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto Geral de Perícias do Rio Grande do Sul, pela compreensão, flexibilidade e suporte à realização desse Mestrado Acadêmico. Especialmente à Perita Criminal Me. Maria Cristina Franck, por disponibilizar o seu tempo para me ouvir e apoiar em todos os momentos que precisei.

Aos meus familiares e amigos, pelo apoio e compreensão, apesar dos incontáveis momentos em que precisei me fazer ausente. Especialmente às minhas mães, Verônica e Sílvia, pelo amor, incentivo e esforços incondicionais ao meu crescimento acadêmico e profissional.

A minha gratidão a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para o meu crescimento. A realização desse trabalho não seria possível sem vocês.



## RESUMO

O comércio ilícito de medicamentos seja por falsificação, contrabando ou descaminho é um problema mundial, atualmente agravado pela facilidade de compra e venda anônima destes produtos pela internet. Por serem produzidos sem obedecer às boas práticas de fabricação, esses produtos podem ter sua composição completamente diferente da original, ou possuir concentrações relevantes de impurezas e contaminantes tóxicos, podendo oferecer sérios riscos à saúde pública. Sabendo que os esteroides anabolizantes encontram-se entre as principais classes terapêuticas irregulares, o objetivo deste estudo foi propor estratégias para uma coleta de informações robusta acerca de amostras desses medicamentos, apreendidos pela Polícia Federal no estado do Rio Grande do Sul, utilizando as técnicas de Microespectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier no Modo Reflexão Total Atenuada ( $\mu$ ATR-FTIR) e Cromatografia em fase Gasosa com detecção simultânea por Espectrometria de Massas e Ionização de Chamas (GC/MS/FID). Ambas foram aplicadas de maneira inédita para a análise forense de medicamentos anabolizantes e mostraram-se eficazes para a distinção entre produtos autênticos e inautênticos com base na detecção do princípio ativo. Através  $\mu$ ATR-FTIR, associada aos métodos univariado de integração de bandas e multivariado de resolução de curvas, foi possível criar mapas de distribuição de substâncias em determinadas regiões da amostra. Além disso, um método analítico por GC/MS foi satisfatoriamente adaptado para a detecção simultânea por FID, de forma a possibilitar a estimativa da proporção relativa dos princípios ativos detectados em diferentes amostras. Através de sua aplicação, foi possível inferir a irregularidade dos medicamentos devido à ausência dos princípios ativos descritos no rótulo, pela presença de substâncias diferentes das mencionadas, assim como pela variação expressiva do teor de princípio ativo entre amostras de mesmo lote. Conclui-se que ambas as metodologias são promissoras para a análise de medicamentos esteroides anabolizantes questionados, e devem ser utilizadas em conjunto para a melhor classificação de amostras autênticas e inautênticas.

Palavras-chave: medicamentos irregulares; esteroides anabolizantes;  $\mu$ ATR-FTIR; imagem química; GC/MS/FID; quimiometria; análise pericial; inteligência forense.



## ABSTRACT

### **Contribution to forensic study of anabolic steroids through application of spectroscopic, chromatographic and chemometric tools**

The illicit trade of medicines is a worldwide problem, currently aggravated by the ease of anonymous purchase and sale of these products over the Internet. Because they usually do not comply with good manufacturing practices, these products may have their composition completely different from the original, or may present harmful impurities and toxic contaminants, causing serious public health risks. Knowing that anabolic steroids are among the main irregular therapeutic classes, the objective of this study was to propose robust methodologies for the analysis of samples of these medicines, seized by the Brazilian Federal Police in the state of Rio Grande do Sul, using Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Microspectroscopy ( $\mu$ ATR-FTIR) and Gas Chromatography with simultaneous detection by Mass Spectrometry and Flame Ionization (GC/MS/FID). Both techniques were applied in a novelty way for the analysis of anabolic drugs and used to distinguish between authentic and inauthentic products based on active pharmaceutical ingredients' detection. Through  $\mu$ ATR-FTIR, associated with univariate bands integration and multivariate curves resolution methods, it was possible to create substance distribution maps of samples. In addition, an analytical method by GC/MS was adapted satisfactorily for simultaneous detection by FID, in order to allow the estimation of the relative proportion of the active pharmaceutical ingredients detected in different samples. Through its application, it was possible to infer drugs' irregularity due to the absence of active pharmaceutical ingredients, to the presence of substances that were not described in labels, as well as by the expressive variation of the content of the active pharmaceutical ingredient between samples taken from the same batch. It can be concluded from this study that the methodologies are promising for the analysis of questioned anabolic steroid drugs, and should be used in a complementary way for a better classification between authentic and inauthentic products.

Keywords: irregular medicines; anabolic steroids;  $\mu$ ATR-FTIR; chemical image; GC/MS/FID; chemometrics; forensic analysis; forensic intelligence.





## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema simplificado das etapas de aplicação do MCR-ALS em dados de espectroscopia vibracional..... 49
- Figura 2.** Esquema simplificado de um cromatógrafo em fase gasosa com análise simultânea por detectores de ionização de chamas (FID) e espectrometria de massas (MS)..... 52
- Figura 3.** Fotografias de algumas das amostras de comprimidos questionados compartilhadas pela Polícia Federal para as análises..... 57
- Figura 4.** Acessório para microscopia, Micro-Vice Holder (ST-Japan, Inc.), imobilizando uma amostra de comprimido questionado..... 58
- Figura 5.** Perfil de fragmentação de massas dos esteroides anabolizantes estudados..... 66
- Figura 6.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR da amostra de comprimido questionado codificado como 807 ..... 69
- Figura 7.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR e pelo método univariado de mapeamento químico da amostra de comprimido questionado codificado como 747..... 73
- Figura 8.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR e pelo método univariado de mapeamento químico da amostra de comprimido questionado codificado como 791 ..... 75
- Figura 9.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR e pelo método univariado de mapeamento químico da amostra de comprimido questionado codificado como 733..... 77

<b>Figura 10.</b> Resultados obtidos através da análise por $\mu$ ATR-FTIR e pelo método univariado de mapeamento químico da amostra de comprimido questionado codificado como 725. ....	78
<b>Figura 11.</b> Resultados obtidos através da análise por $\mu$ ATR-FTIR e pelo método multivariado MCR-ALS de mapeamento químico da amostra de comprimido questionado codificado como 747 .....	80
<b>Figura 12.</b> Resultados obtidos através da análise por $\mu$ ATR-FTIR e pelo método multivariado MCR-ALS de mapeamento químico da amostra de comprimido questionado codificado como 759.....	81
<b>Figura 13.</b> Resultados obtidos através da análise por $\mu$ ATR-FTIR e pelo método multivariado MCR-ALS de mapeamento químico da amostra de comprimido questionado codificado como 733 .....	83
<b>Figura 14.</b> Resultado da análise de um comprimido questionado que apresentou baixa dureza.....	87
<b>Figura 15.</b> Exemplos de imagens obtidas através do microscópio LUMOS (Bruker) para diferentes amostras em estudo .....	88
<b>Figura 16.</b> Cromatogramas TIC resultantes das análises por GC/MS/FID das soluções de referência de esteroides anabolizantes.....	90
<b>Figura 17.</b> Cromatogramas TIC e FID da amostra de comprimido questionado codificada como 533A, analisada por GC/MS/FID .....	93

## LISTA DE QUADROS

- Quadro 1.** Parâmetros do método para análise de esteroides anabolizantes por cromatografia em fase gasosa com detecção simultânea por espectrometria de massas e ionização de chamas (GC/MS/FID) ..... 63
- Quadro 2.** Resultados das análises das amostras de comprimidos questionados por Microespectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier no Modo Reflexão Total Atenuada ( $\mu$ ATR-FTIR)..... 71
- Quadro 3.** Parâmetros utilizados para a criação dos mapas de distribuição de princípios ativos pelo método univariado a partir das análises por  $\mu$ ATR-FTIR ..... 72
- Quadro 4.** Resultados das análises das amostras de comprimidos questionados por GC/MS/FID ..... 91
- Quadro 5.** Resultados da integração do pico cromatográfico referente ao princípio ativo no cromatograma FID das amostras codificadas como 553 e 554, analisadas por GC/MS/FID ..... 94



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu$ ATR-FTIR	Microespectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier no Modo Reflexão Total Atenuada (do inglês <i>Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Microspectroscopy</i> )
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Refletância Total Atenuada (do inglês <i>Attenuated Total Reflection</i> )
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CLS	Mínimos Quadrados Clássico (do inglês <i>Classical Least Squares</i> )
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DSC	Calorimetria de Varredura Diferencial (do inglês <i>Differential Scanning Calorimeter</i> )
EAA	Esteroides Anabólicos Androgênicos
ESI-MS	Espectrometria de Massas com Ionização por <i>Electrospray</i> (do Inglês <i>Electrospray Ionization Mass Spectrometry</i> )
FID	Detector de Ionização de Chama (do inglês <i>Flame Ionization Detector</i> )
FIR	Infravermelho Distante (do inglês <i>Far Infrared</i> )
FPA	Matriz de Plano Focal (do inglês <i>Focal Plane Array</i> )
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (do inglês <i>Fourier Transform Infrared</i> )

GC	Cromatografia em Fase Gasosa (do inglês <i>Gas Chromatography</i> )
HCA	Análise de Agrupamentos Hierárquicos (do inglês <i>Hierarchical Cluster Analysis</i> )
INCT Forense	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Forense
LABTOXICO	Laboratório de Análises e Pesquisa em Toxicologia
LOF	Falta de ajuste (do inglês <i>Lack of Fit</i> )
MCR-ALS	Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (do inglês <i>Multivariate Curve Resolution with Alternating Least Squares</i> )
MCT	Mercúrio Cádmio Telúrio
MIR	Infravermelho Médio (do inglês <i>Mid Infrared</i> )
MS	Espectrometria de Massas (do inglês <i>Mass Spectrometry</i> )
NIR	Infravermelho Próximo (do inglês <i>Near Infrared</i> )
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (do inglês <i>National Institute of Standards and Technology</i> )
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCA	Análise de Componentes Principais (do inglês <i>Principal Component Analysis</i> )
R <sup>2</sup>	Porcentagem de variância explicada
SETEC/SR/PF/RS	Setor Técnico-Científico da Polícia Federal no estado do Rio Grande do Sul
SVD	Decomposição em Valores Singulares (do inglês <i>Singular Values Decomposition</i> )
TIC	Cromatograma de Íons Totais (do inglês <i>Total Ion</i>

*Chromatogram)*

UPLC-DAD	Cromatografia Líquida de Ultraeficiência com Detecção por Arranjo de Diodos (do inglês <i>Ultra-High-Performance Liquid Chromatography–Diode Array Detector</i> )
VSC	Comparador Espectral de Vídeo (do inglês <i>Video Spectral Comparator</i> )
XRF	Fluorescência de Raios-x (do inglês <i>X-Ray Fluorescence</i> )





## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>27</b>
2.1.	OBJETIVO GERAL .....	29
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
<b>3.</b>	<b>REVISÃO</b> .....	<b>31</b>
3.1.	A PROBLEMÁTICA DOS MEDICAMENTOS IRREGULARES .....	33
3.2.	ESTEROIDES ANABOLIZANTES.....	38
3.3.	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO.....	40
3.3.1.	Microespectroscopia .....	41
3.3.2.	Mapeamento químico.....	42
3.3.3.	Processamento de dados hiperespectrais .....	47
3.4.	CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA .....	50
3.4.1.	Detecção simultânea .....	52
<b>4.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>55</b>
4.1.	MICROESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO ( $\mu$ ATR-FTIR).....	57
4.1.1.	Descrição das amostras.....	57
4.1.2.	Preparo das amostras .....	58
4.1.3.	Aquisição dos dados .....	58
4.1.4.	Tratamento dos dados .....	59
4.2.	CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA (GC/MS/FID).....	61
4.2.1.	Descrição das amostras e materiais .....	61
4.2.2.	Preparo das amostras .....	62
4.2.3.	Aquisição dos dados .....	62

4.2.4. Tratamento dos dados.....	63
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>67</b>
5.1. RESULTADOS E DISCUSSÃO DAS ANÁLISES POR $\mu$ ATR-FTIR.....	69
5.2. RESULTADOS PRELIMINARES E DISCUSSÃO DAS ANÁLISES POR GC/MS/FID.....	89
5.3. DISCUSSÃO GERAL.....	95
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>99</b>
<b>7. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>103</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>107</b>
<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>117</b>
<b>APÊNDICE B.....</b>	<b>145</b>

## 1. INTRODUÇÃO

---



Conforme disposto na Lei 5.991/1973, medicamento é todo o “produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico” (BRASIL, 1973). Para serem registrados no Brasil, esses produtos devem ser fabricados sob normas rígidas de qualidade, determinadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução RDC Nº 17/2010, além de passarem por diversos testes de qualidade, que garantem a sua segurança e eficácia para o consumo (BRASIL, 2010, 1976). Entretanto, medicamentos são objetos constantes do comércio ilícito, seja por falsificação, adulteração, contrabando ou descaminho (ORTIZ, 2013). Por não atenderem requisitos legais, esses podem ser denominados “medicamentos irregulares”, e representam sérios riscos para a saúde dos consumidores.

Dentre os medicamentos irregulares, encontram-se produtos de referência, similares e genéricos das mais variadas classes terapêuticas. O presente estudo teve seu foco voltado para a análise de medicamentos anabolizantes, cujos dados de apreensões de medicamentos pela Polícia Federal brasileira revelam ser a segunda classe mais apreendida, ficando atrás apenas dos fármacos utilizados no tratamento da disfunção erétil (AMES; SOUZA, 2012; MARCHETTI, 2014).

Os esteroides anabólicos androgênicos (EAA) são hormônios derivados do colesterol, quimicamente similares à testosterona. Seu uso na clínica já foi largamente documentado para o tratamento de diversas condições médicas, como hipogonadismo masculino, deficiência do metabolismo proteico, anemias graves, insuficiência renal aguda, entre outros (CECCHETTO; DE MORAES; DE FARIAS, 2012; CUNHA *et al.*, 2004). Entretanto, devido as suas propriedades anabólicas, os EAA têm sido muito utilizados sem fins medicinais, no intuito de melhorar desempenho físico, aumentar força e massa muscular.

No Brasil, a compra regularizada de esteroides anabolizantes exige a apresentação de Receita de Controle Especial em duas vias, uma vez que essas substâncias são controladas pela Portaria 344/98 (Lista C5), o que pode contribuir para o aumento da demanda por esses produtos no mercado ilícito (BRASIL, 1998a). Sendo assim, quando o usuário adquire medicamentos anabolizantes para fins não médicos, pode acabar aumentando a sua exposição aos produtos irregulares.

Como a maior parte desses produtos não passa pelo controle de qualidade preconizado pela ANVISA, diversos são os riscos para a sua utilização. Por isso, o combate a esse comércio é extremamente importante para a sociedade. Nesse sentido, o papel da perícia criminal na análise dos produtos apreendidos é fundamental, uma vez que possibilita a materialização do crime e, em um passo além, a reunião de informações sólidas acerca do *modus operandi* de uma organização criminal, através da inteligência forense.

Várias técnicas analíticas já foram aplicadas para a verificação da autenticidade de medicamentos anabolizantes, incluindo cromatografia em fase líquida com detecção por ultravioleta ou espectrometria de massas, cromatografia em fase gasosa acoplada a detectores de massas ou de nitrogênio-fósforo, espectroscopia de infravermelho médio ou próximo, espectroscopia Raman, ressonância magnética nuclear, espectrometria de massas, entre outros (GÖRÖG, 2004; NEVES *et al.*, 2017; NEVES; CALDAS, 2017; NIELEN *et al.*, 2001; PELLEGRINI *et al.*, 2012; PROKUDINA *et al.*, 2015; REBIERE *et al.*, 2016; THEVIS *et al.*, 2008; VAN POUCKE *et al.*, 2007; WALTERS; AYERS; BROWN, 1990). Nesse estudo, focamos em duas ferramentas principais: a espectroscopia de infravermelho e a cromatografia em fase gasosa.

A primeira técnica a ser explorada foi a de Microespectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier no Modo Reflexão Total Atenuada ( $\mu$ ATR-FTIR). A partir da análise de comprimidos anabolizantes questionados, buscou-se avaliar a aplicabilidade da utilização dos dados de  $\mu$ ATR-FTIR para a criação de mapas de distribuição de princípios ativos e excipientes na amostra pelos métodos univariado de integração de bandas e multivariado de resolução de curvas.

Como se trata de uma técnica não destrutiva aplicada à escala microscópica, permite a análise de microvestígios com a preservação da prova, e, portanto, a microespectroscopia já vem sendo estudada para diversas áreas das ciências forenses. Entretanto, até onde se tem conhecimento, este é o primeiro trabalho que aplica a técnica de  $\mu$ ATR-FTIR para a análise de medicamentos anabolizantes questionados.

Em seguida, foi realizada a adaptação de um método cromatográfico de identificação de princípios ativos anabolizantes. A metodologia explorada pelo presente estudo foi cromatografia em fase gasosa (GC) com detecção simultânea por espectrometria de massas (MS) e ionização de chama (FID) (GC/MS/FID). A cromatografia em fase gasosa foi à técnica de escolha por já ser bastante utilizada nos laboratórios forenses oficiais, o que facilita a sua implementação na rotina de análise de anabolizantes questionados. A aplicação da detecção simultânea por MS e FID, por sua vez, permite a realização, ao mesmo tempo, da identificação de princípios ativos e da estimativa da sua proporção entre diferentes amostras, agregando informações relevantes para a inteligência forense.

Dessa forma, a segunda técnica a ser utilizada foi a GC/MS/FID, aplicada a determinação de esteroides anabolizantes em amostras de cápsulas e comprimidos periorais, com preparo de amostra simples, originalidade e ineditismo, uma vez que não há relatos na literatura do uso dessas metodologias combinadas para análise de anabolizantes, caracterizando mérito científico.

Este estudo é parte do projeto aprovado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) junto à Chamada Pública MCTI/CNPQ/CAPES/FAPS Nº 16/2014 - PROGRAMA INCT, processo número 465450/2014-8, intitulado "Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Forense (INCT Forense)". Foi desenvolvido de acordo com o Convênio de Cooperação Técnico-Científica vigente entre a UFRGS, através do Laboratório de Análises e Pesquisa em Toxicologia (LABTOXICO) da Faculdade de Farmácia, e a Superintendência Regional de Polícia Federal do Rio Grande do Sul (SR/PF/RS), renovado sob Processo nº 23078.007718/2018-66.





## **2. OBJETIVOS**

---



## **2.1. Objetivo Geral**

Aplicar ferramentas espectroscópicas, cromatográficas e quimiométricas para a análise de medicamentos anabolizantes na forma de comprimidos e cápsulas, tendo em vista sua aplicação em atividades periciais e de inteligência forense.

## **2.2. Objetivos Específicos**

- Estabelecer metodologia para a análise de comprimidos anabolizantes questionados através da Microespectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier no Modo Reflexão Total Atenuada ( $\mu$ ATR-FTIR), comparando a aplicabilidade dos métodos univariado de integração de bandas e multivariado de resolução de curvas para a criação de mapas de distribuição de princípios ativos e excipientes;
- Estabelecer metodologia para análise de medicamentos anabolizantes questionados na forma de comprimidos e cápsulas empregando cromatografia gasosa com detecção simultânea por espectrometria de massas e ionização de chamas (GC/MS/FID);
- Aplicar as metodologias estabelecidas para análise de amostras reais apreendidas pela Polícia Federal no estado do Rio Grande do Sul.







### **3.1. A problemática dos medicamentos irregulares**

A comercialização ilegal de medicamentos é um problema mundial que acarreta sérios riscos à saúde pública. Os conceitos utilizados para definir produtos farmacêuticos irregulares estão sob constante debate, embora as definições apresentadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) sejam as mais utilizadas como referência mundial (DÉGARDIN; ROGGO; MARGOT, 2014; REBIERE *et al.*, 2017).

Recentemente, a OMS adotou três diferentes termos para denominar produtos farmacêuticos irregulares: “produtos médicos não registrados” para os que não passaram pela avaliação ou aprovação da vigilância sanitária; “produtos médicos de qualidade inferior” para aqueles que, embora autorizados e produzidos por fabricantes registrados, por algum motivo não conseguiram alcançar seus padrões de qualidade ou especificações (não intencionalmente); e “produtos médicos falsificados”, para os que intencionalmente forem modificados quanto à identidade, composição ou fonte (OMS, 2018).

Estes produtos podem ser de diferentes tipos, incluindo: dispositivos médicos, matéria-prima utilizada para a fabricação ou os medicamentos em sua forma comercial. Esses últimos podem conter modificações em sua formulação, embalagem ou documentação (DÉGARDIN; ROGGO; MARGOT, 2014; REBIERE *et al.*, 2017).

A utilização de medicamentos irregulares é uma prática de elevado risco, uma vez que não é possível ter certeza acerca da composição dos produtos adquiridos. Esses podem conter o mesmo princípio ativo do original, porém não necessariamente em doses adequadas, sejam essas elevadas demais ou mais baixas do que o recomendado. Em outros casos, o produto contém princípios ativos diferentes daqueles indicados em seu rótulo e registro, muitas vezes por serem mais baratas ou mais fáceis de adquirir, além de contaminantes e diluentes. Podem até mesmo não conter princípio ativo algum. Em todos os casos, a compra desses medicamentos traz algum prejuízo para o consumidor, uma vez que eles podem causar resistência ao tratamento, aumentar a chance de aparecimento de efeitos adversos, causar intoxicações e até mesmo a morte, por complicações, overdoses

ou ineficiência do tratamento (DÉGARDIN; ROGGO; MARGOT, 2014; OMS, 2018; 1999; REBIERE *et al.*, 2017).

Além disso, como destacado por Sacré, *et al.* (2011), a produção desses medicamentos, em geral, não está de acordo com as Boas Práticas de Fabricação requeridas pela vigilância sanitária e, portanto, é provável que haja grande quantidade de impurezas em sua formulação. Essas podem ser provenientes, por exemplo, do uso de matérias-primas de baixa qualidade, de subprodutos e solventes residuais da síntese do princípio ativo ou de produtos de degradação formados durante sua fabricação ou armazenamento (KOVALESKI *et al.*, 2007).

Estudos sugerem que o crescimento significativo do fenômeno de produção de medicamentos falsificados pode estar associado à facilitação do acesso às tecnologias necessárias para copiar produtos farmacêuticos genuínos (FERNANDEZ *et al.*, 2011). Essa questão é ainda agravada pelo livre comércio desses produtos através da internet, o qual tem crescido exponencialmente nestes últimos anos por diversos motivos. Um deles é a conveniência: com apenas alguns cliques é possível adquirir o produto desejado, até mesmo sem necessidade de apresentação de receita médica. Além disso, o comércio pela Internet oferece anonimato, o que é muito atraente tanto para consumidores que buscam tratamento para condições estigmatizadas, como a impotência sexual, quanto para todos os integrantes da cadeia de suprimento de medicamentos irregulares, visto que fabricantes, atacadistas, distribuidores e revendedores não precisam se identificar para que possam realizar suas vendas em sites fraudulentos (DÉGARDIN; ROGGO; MARGOT, 2014; OMS, 2018). Sabendo desse panorama, estima-se que mais da metade dos medicamentos vendidos pela internet sejam irregulares (DÉGARDIN; ROGGO; MARGOT, 2014). Esse número é reduzido para 10% quando se fala do comércio em geral (HURTADO; LASMAR, 2014). Entretanto, como essa é uma atividade ilegal, não é possível determinar qual porcentagem desses produtos não é sequer detectada pelas autoridades.

Do ponto de vista legal, a falsificação e o comércio irregular de medicamentos são considerados infrações de natureza sanitária, previstas na Lei nº 6437/1977, além de crimes contra a saúde pública, previstos nos artigos 273, 274, 275 e 276 do Código Penal brasileiro (BRASIL, 1998b, 1977, 1940).



“Art. 273 - Falsificar, corromper, adulterar ou alterar produto destinado a fins terapêuticos ou medicinais:

Pena - reclusão, de 10 (dez) a 15 (quinze) anos, e multa.

§ 1º - Nas mesmas penas incorre quem importa, vende, expõe à venda, tem em depósito para vender ou, de qualquer forma, distribui ou entrega a consumo o produto falsificado, corrompido, adulterado ou alterado.

§ 1º-A - Incluem-se entre os produtos a que se refere este artigo os medicamentos, as matérias-primas, os insumos farmacêuticos, os cosméticos, os saneantes e os de uso em diagnóstico.

§ 1º-B - Está sujeito às penas deste artigo quem pratica as ações previstas no § 1º em relação a produtos em qualquer das seguintes condições:

I - sem registro, quando exigível, no órgão de vigilância sanitária competente;

II - em desacordo com a fórmula constante do registro previsto no inciso anterior;

III - sem as características de identidade e qualidade admitidas para a sua comercialização;

IV - com redução de seu valor terapêutico ou de sua atividade;

V - de procedência ignorada;

VI - adquiridos de estabelecimento sem licença da autoridade sanitária competente.

§ 2º - Se o crime é culposo:

Pena - detenção, de 1 (um) a 3 (três) anos, e multa. (...)

Art. 274 - Empregar, no fabrico de produto destinado a consumo, revestimento, gaseificação artificial, matéria corante, substância aromática, anti-séptica, conservadora ou qualquer outra não expressamente permitida pela legislação sanitária:

Pena - reclusão, de 1 (um) a 5 (cinco) anos, e multa. (...)

Art. 275 - Inculcar, em invólucro ou recipiente de produtos alimentícios, terapêuticos ou medicinais, a existência de substância que não se encontra em seu conteúdo ou que nele existe em quantidade menor que a mencionada:

Pena - reclusão, de 1 (um) a 5 (cinco) anos, e multa. (...)

Art. 276 - Vender, expor à venda, ter em depósito para vender ou, de qualquer forma, entregar a consumo produto nas condições dos arts. 274 e 275.

Pena - reclusão, de 1 (um) a 5 (cinco) anos, e multa.”

(BRASIL, 1940)

Todos esses casos de irregularidade são considerados crimes hediondos e, portanto, são inafiançáveis e insuscetíveis de anistia, graça ou indulto (BRASIL, 1990).

Os medicamentos alvos de falsificação, contrabando e descaminho variam para cada região do planeta, podendo ser de qualquer classe farmacológica. Estudos brasileiros indicam que os principais medicamentos irregulares no Brasil são aqueles utilizados no tratamento da disfunção erétil e, em segundo lugar, os esteroides anabolizantes, o que se pode explicar pela alta demanda pela população brasileira e pelo elevado preço desses produtos (AMES; SOUZA, 2012; HURTADO; LASMAR, 2014; MARCHETI, 2014). Por isso, os esforços para o controle desse problema devem ser focados, inicialmente, nessas classes farmacológicas.

O nosso grupo de pesquisa já explorou diversas técnicas para a análise dos medicamentos destinados ao tratamento da disfunção erétil, contemplando diferentes abordagens, como a identificação e quantificação de substâncias farmacologicamente ativas, a aquisição dos perfis tecnológico, orgânico e inorgânico de amostras comerciais e questionadas, e o processamento de imagens. As metodologias desenvolvidas pelo grupo, com o objetivo de detectar falsificações dos produtos comerciais Cialis® e Viagra® e de classificar amostras questionadas similares, incluem:

- Obtenção do perfil tecnológico dos comprimidos através da medida de suas características pós-compressão (massa, espessura, comprimento longitudinal e comprimento transversal), associado à análise quimiométrica por Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA) (ORTIZ *et al.*, 2012b);

- Processamento de imagens dos comprimidos, obtidas em Comparador Espectral de Vídeo (VSC) sob condições de iluminação controladas, através da construção de modelo estatístico baseado nos componentes de cores RGB (JUNG *et al.*, 2012);

- Obtenção de perfil térmico através de análise por Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC), associada à análise quimiométrica por HCA (SANTOS *et al.*, 2019);

- Caracterização química através da análise por Espectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier no Modo Reflexão Total Atenuada (ATR-FTIR), associada à análise quimiométrica por Análise de Componentes Principais (PCA) (ORTIZ *et al.*, 2013a);

- Desenvolvimento de diferentes abordagens multivariadas de seleção de comprimentos de onda e de classificação entre amostras autênticas e inautênticas, partindo de dados de caracterização química por ATR-FTIR (ANZANELLO *et al.*, 2017, 2014a, 2014c, 2013; KAHMANN *et al.*, 2018b);

- Obtenção do perfil inorgânico (presença de metais) por Espectrometria de Fluorescência de Raios-x (XRF), associada à análise quimiométrica por PCA e HCA (ORTIZ *et al.*, 2012a);

- Obtenção do perfil orgânico por Espectrometria de Massas com Ionização por *Electrospray* (ESI-MS) com infusão direta, associada à análise quimiométrica por PCA (ORTIZ *et al.*, 2011);

- Determinação de princípios ativos por Cromatografia Líquida de Ultraeficiência com Detecção por Arranjo de Diodos (UPLC-DAD) (ORTIZ; ANTUNES; LINDEN, 2010);

- Caracterização química por Cromatografia Líquida de Ultraeficiência com detecção de Arranjo de Diodos e de Espectrometria de Massas com Ionização por *Electrospray* (UPLC-DAD-ESI-MS), associada à análise quimiométrica por PCA e HCA (ORTIZ *et al.*, 2013b);

Considerando as extensas pesquisas realizadas por nosso grupo de pesquisa para análise dos medicamentos utilizados no tratamento da disfunção erétil, portanto, o presente estudo teve seu foco voltado para a segunda classe mais apreendida: a dos esteroides anabolizantes.

### **3.2. Esteroides anabolizantes**

Os esteroides anabólicos androgênicos (EAA), ou esteroides anabolizantes, são hormônios derivados do colesterol, quimicamente similares à testosterona. Seu uso na clínica já foi largamente documentado para o tratamento de diversas condições médicas, como: hipogonadismo masculino; deficiência do metabolismo proteico decorrente de politraumatismos; queimaduras e pós-operatórios; anemias graves; insuficiência renal aguda; perda de massa muscular corporal devido ao câncer e à síndrome da imunodeficiência adquirida; entre outros (CECCHETTO; DE MORAES; DE FARIAS, 2012; CUNHA *et al.*, 2004). Entretanto, devido as suas propriedades anabólicas, os esteroides anabolizantes têm sido muito utilizados por homens e mulheres saudáveis sem fins medicinais, no intuito de melhorar desempenho físico, aumentar a força e a massa muscular.

Estimativas recentes do uso de EAA no Brasil indicam que a prevalência de uso varia entre 2,1% e 31,6%, de acordo com a região e a população analisada. Em geral, maior prevalência tem sido encontrada entre os frequentadores de academias, compostos por atletas recreativos e praticantes regulares de atividade física, que buscam essencialmente obter melhores resultados físicos e estéticos (ABRAHIN; DE SOUSA; SANTOS, 2014).

O uso indiscriminado, abusivo e não terapêutico dos esteroides anabolizantes está relacionado a uma série de efeitos tóxicos e colaterais, relacionados, principalmente, a suas propriedades androgênicas. Esses incluem alterações dermatológicas, musculoesqueléticas, endócrinas, geniturinárias, cardiovasculares, hepáticas e psicológicas (ABRAHIN; DE SOUSA, 2013). Especificar essas alterações em detalhes foge do escopo desse estudo, porém, cabe salientar que aos esteroides anabolizantes irregulares somam-se ainda riscos relacionados à baixa qualidade dos produtos adquiridos e ao potencial toxicológico de princípios ativos de

outras classes farmacológicas utilizados na sua adulteração, além de possíveis contaminantes, adulterantes e/ou produtos de degradação.

Ressalta-se que, no Brasil, a compra regularizada de esteroides anabolizantes exige a apresentação de Receita de Controle Especial em duas vias, uma vez que essas substâncias são controladas pela Portaria 344/98 (Lista C5), tornando o processo de compra mais complexo, o que pode, em certo grau, contribuir para o aumento da demanda por esses produtos no mercado ilícito (BRASIL, 1998a). Dessa forma, quando o usuário adquire medicamentos anabolizantes para fins não médicos, pode acabar aumentando a sua exposição aos produtos irregulares, provenientes de falsificação, adulteração, contrabando e descaminho. Esses são comercializados principalmente em academias, lojas esportivas e através de sites na internet (REBIERE *et al.*, 2016).

Um estudo retrospectivo, realizado com dados obtidos através de laudos emitidos pela Polícia Federal brasileira, verificou que aproximadamente um terço dos produtos anabolizantes investigados entre 2006 e 2011 foi considerado falso. Desses produtos, 48,6% não apresentavam nenhum princípio ativo, 28,3% apresentavam princípios diferentes dos declarados nos rótulos, 5,7% apresentavam apenas algumas das substâncias descritas e 1,4% continham substâncias adicionais às declaradas (NEVES; MARCHETTI; CALDAS, 2013). Com esse panorama, é possível verificar que o risco da utilização de esteroides anabolizantes é bastante elevado, e infelizmente, seu comércio está bem consolidado no Brasil. Portanto, esforços devem ser aplicados para o combate desse problema, sendo um dos focos de trabalho relacionado ao desenvolvimento de novas metodologias para análise dos produtos apreendidos.

Várias técnicas analíticas já foram aplicadas para a verificação da autenticidade de medicamentos anabolizantes, incluindo cromatografia em fase líquida com detecção por ultravioleta ou espectrometria de massas, cromatografia em fase gasosa acoplada a detectores de massas ou de nitrogênio-fósforo, espectroscopia de infravermelho médio ou próximo, espectroscopia Raman, ressonância magnética nuclear, espectrometria de massas, entre outros (GÖRÖG, 2004; NEVES; CALDAS, 2017; NEVES *et al.*, 2017; NIELEN *et al.*, 2001; PELLEGRINI *et al.*, 2012; PROKUDINA *et al.*, 2015; REBIERE *et al.*, 2016; THEVIS

*et al.*, 2008; VAN POUCKE *et al.*, 2007; WALTERS; AYERS; BROWN, 1990; WALTERS). Nesse estudo, focamos em duas ferramentas principais: a espectroscopia de infravermelho e a cromatografia em fase gasosa.

### **3.3. Espectroscopia de infravermelho**

A Espectroscopia de Infravermelho é uma técnica analítico-instrumental de espectroscopia vibracional. Engloba o infravermelho próximo (NIR), o infravermelho médio (MIR) e o infravermelho distante (FIR), os quais utilizam as faixas do espectro eletromagnético em que as ligações moleculares vibram, de  $12800 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ,  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  e  $400 - 10 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente (CHALMERS; EDWARDS; HARGREAVES, 2012). Essas técnicas têm como principal vantagem o oferecimento de medidas rápidas, não destrutivas e extremamente informativas da composição química de uma amostra, qualidades essas indispensáveis para aplicação nas ciências forenses, cujas amostras geralmente apresentam-se em quantidades reduzidas e cujos resultados devem ser confirmados por várias técnicas antes de serem liberados em um laudo pericial.

Os equipamentos mais utilizados para a aplicação da MIR atualmente são os denominados espectrômetros de infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR). Esses instrumentos coletam informações de todos os números de onda simultaneamente através da medição de um interferograma. Como esse sinal é muito complexo para ser diretamente interpretado, deve ser traduzido em um gráfico de intensidade *versus* frequência, o espectro, através da operação matemática denominada transformada de Fourier. Suas vantagens sobre os tradicionais espectrômetros dispersivos são a produção de espectros muito mais rapidamente e a obtenção de uma melhor relação sinal-ruído (PAVIA *et al.*, 2010; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

Em um espectrômetro FTIR, as amostras podem ser medidas nos modos de transmissão ou reflexão. Para sólidos espessos, a técnica de amostragem de Refletância Total Atenuada (ATR) é mais indicada, pois independe da espessura da amostra e muitas vezes não exige seu tratamento prévio, uma vez que o sólido é posicionado diretamente em contato com a superfície de um cristal para a obtenção

dos dados espectroscópicos (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

A espectroscopia de infravermelho pode ser aplicada para análise de diversos tipos de vestígios e permite manter a amostra inalterada após a análise, permitindo a sua preservação, a realização de análises adicionais e a repetição dos exames em contraprovas. Por isso, a técnica de ATR-FTIR é uma ferramenta muito utilizada nas ciências forenses atualmente. Alguns exemplos abrangem a sua utilização na datação de tintas e canetas em documentos questionados, a caracterização química de drogas ilícitas e a detecção de falsificação de medicamentos (CARVALHO *et al.*, 2019; GONZÁLEZ, 2018; KAHMANN *et al.*, 2018a; MARCELO *et al.*, 2015; ORTIZ *et al.*, 2013a).

Nosso grupo de pesquisa vem trabalhando há anos com a análise de medicamentos irregulares, empregando diversas metodologias analíticas (ANZANELLO *et al.*, 2017, 2014a, 2014c, 2013; JUNG *et al.*, 2012; KAHMANN *et al.*, 2018b; MARIOTTI *et al.*, 2013; ORTIZ; ANTUNES; LINDEN, 2010; ORTIZ, 2013; ORTIZ *et al.*, 2013a, 2013b, 2012a, 2011; SANTOS *et al.*, 2019). Em um dos trabalhos publicados, diversas técnicas utilizadas para a detecção da falsificação dos medicamentos Viagra® e Cialis® foram comparadas. A conclusão do grupo foi de que a espectroscopia no infravermelho médio, aliada às técnicas de quimiometria, foi uma das técnicas que mostrou melhores resultados quando utilizadas para a detecção de falsificações (ANZANELLO *et al.*, 2014b).

Considerando que os dados de infravermelho já vêm sendo largamente utilizados pelo nosso grupo de pesquisa e pelos setores de perícia da Polícia Federal brasileira, no presente trabalho buscou-se explorar uma nova aplicação dessa metodologia: a utilização da microespectroscopia de infravermelho médio como auxiliar na detecção de medicamentos irregulares.

### **3.3.1. Microespectroscopia**

A microespectroscopia, resultante da combinação de espectrômetros com sistemas de microscopia óptica, é uma técnica que permite realizar a inspeção visual

microscópica e a coleta de espectros de uma pequena região da amostra. Em outras palavras, é uma técnica que permite a aplicação da análise espectroscópica em escala microscópica.

Por realizar a aquisição de espectros de áreas menores do que a espectroscopia convencional, a probabilidade de detecção de materiais traços em uma amostra é bem maior quando a microespectroscopia é aplicada, o que torna a técnica extremamente relevante para o estudo de microvestígios. Nesse sentido, essas técnicas já vêm sendo largamente utilizadas na área forense. Alguns exemplos de aplicação incluem o estudo de cruzamento de traços de canetas na documentoscopia, a distinção entre fibras têxteis naturais e sintéticas provenientes de cenas de crime, detecção de resíduos de drogas ou explosivos em impressões digitais latentes, entre outros (CHALMERS; EDWARDS; HARGREAVES, 2012; DAVIS; SCOTT CARNEY; BHARGAVA, 2011; EWING; KAZARIAN, 2017).

### **3.3.2. Mapeamento químico**

A espectroscopia de infravermelho, macroscópica ou microscópica, assim como as demais técnicas de espectroscopia vibracional, pode ser utilizada para a aquisição de imagens químicas de uma determinada amostra, ou seja, para a obtenção de informações espectrais e espaciais de determinada superfície a ser analisada. Esse procedimento, de mapeamento químico, pode ser obtido por diferentes metodologias, dependendo do tipo de equipamento e do detector que compõe o sistema espectroscópico em uso.

O mapeamento de pontos por microespectroscopia de infravermelho com detector de elemento único foi a técnica utilizada para o nosso trabalho. Nessa metodologia, primeiramente, utilizando uma imagem obtida pelo microscópio óptico, localiza-se uma região de interesse e define-se uma matriz de pontos a serem analisados na superfície da amostra. Em seguida, com a utilização de uma plataforma de amostragem motorizada, para cada posição definida, um espectro de infravermelho é medido e armazenado junto de sua informação espacial, até que todos os pontos sejam analisados. Após o tratamento dos dados, é possível apresentar os resultados químicos em um gráfico que represente distribuição de um



componente específico da amostra (CHAN; KAZARIAN, 2003; GENDRIN; ROGGO; COLLET, 2008).

As imagens químicas também podem ser obtidas a partir das metodologias de varredura de linha, em que espectros de uma linha da matriz são adquiridos por vez, e de imageamento global, em que todos os pontos da matriz são adquiridos de uma vez, através da utilização de detectores multicanais do tipo matriz de plano focal (FPA) (GENDRIN; ROGGO; COLLET, 2008; SACRÉ *et al.*, 2014). Cada sistema possui suas vantagens e desvantagens, as quais estão relacionadas principalmente com tempo de aquisição da imagem, quantidade de ruído e resolução espectral, devendo a escolha do melhor método ser estudada para cada aplicação específica. Por exemplo, enquanto a metodologia de imageamento global possui a vantagem de ser mais rápida, por permitir a coleta de milhares de espectros simultaneamente, a relação sinal-ruído tende a ser melhor quando os espectros são adquiridos por mapeamento de pontos (CHAN; KAZARIAN, 2006; GENDRIN; ROGGO; COLLET, 2008).

Em todos os casos, o resultado do experimento é uma matriz tridimensional, formada por duas dimensões espaciais (x e y) e uma dimensão espectral ( $\lambda$ ) (SACRÉ *et al.*, 2014). Em outras palavras, para cada ponto da imagem química há um espectro na terceira dimensão e, por isso, essa imagem também pode ser denominada como imagem hiperespectral (GENDRIN; ROGGO; COLLET, 2008).

O objetivo do processamento de dados nesses estudos, além da caracterização de substâncias, como na análise espectroscópica tradicional, é também a obtenção de mapas de distribuição de determinados componentes em uma superfície, o que traz uma maior facilidade de interpretação dos resultados obtidos pela espectroscopia. Os resultados para diferentes amostras podem ser comparados entre si de maneira muito mais simples, através de uma análise visual das imagens.

Outra vantagem do mapeamento químico em relação à análise espectroscópica tradicional é a possibilidade de detecção de diversos analitos simultaneamente. A detecção de impurezas, por exemplo, é aumentada com o mapeamento, pois mesmo que essas possuam concentrações superficiais muito

baixas, ainda podem fornecer sinais intensos em pontos específicos da amostra (DE JUAN *et al.*, 2004). Essa vantagem é maximizada quando se utiliza a técnica de microespectroscopia para o mapeamento químico, pois como a região amostrada é menor, os espectros obtidos em cada posição do mapa possuem menos interferência das substâncias ao seu redor (LANZAROTTA, 2016).

Devido a essas e outras vantagens, as técnicas de espectroscopia de imagem têm sido utilizadas nas mais diversas áreas das ciências forenses, que usualmente precisam resolver questões relacionadas à análise de traços ou que exijam a comparação entre amostras questionadas e de referência, bem como necessitam preservação do material pericial. Exemplos de aplicações incluem estudos da área de papiloscopia forense, relacionados à diferenciação da composição lipídica e proteica de impressões digitais latentes de diferentes doadores, à alteração da sua composição de acordo com o tempo de deposição (para fins de datação) e à análise de impressões digitais em diferentes substratos sem a necessidade de aplicar reveladores químicos (ANTOINE *et al.*, 2010; CHALMERS; EDWARDS; HARGREAVES, 2012; EWING; KAZARIAN, 2017; GONZÁLEZ *et al.*, 2020; RICCI *et al.*, 2007a; WILLIAMS; SCHWARTZ; BARTICK, 2004). Outras aplicações forenses incluem a verificação da alteração documental através da análise de tintas e suportes, a determinação do envelhecimento de vestígios biológicos através de sua composição química, a comparação de lascas de tintas multicamadas em vestígios e suspeitos, a autenticação de obras de arte e a análise toxicológica de cabelo e tecidos animais (CHALMERS; EDWARDS; HARGREAVES, 2012; DOTY; MURO; LEDNEV, 2017; EWING; KAZARIAN, 2017; FLYNN *et al.*, 2005; LANZAROTTA, 2016; PEREIRA *et al.*, 2017).

O mapeamento químico por espectroscopia vibracional também vem sendo largamente utilizado para a análise de amostras heterogêneas, quando a informação sobre a distribuição de seus componentes na matriz é relevante para o estudo, como é o caso da análise de produtos farmacêuticos.

Um dos critérios básicos para a produção de um medicamento de qualidade é a obtenção de misturas farmacêuticas homogêneas previamente a sua preparação, compressão ou encapsulamento, de modo a assegurar a obtenção de doses unitárias reprodutíveis (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2007). Nesse sentido, a

espectroscopia de imagem tem sido muito utilizada na área farmacêutica de controle de qualidade de produção e de produtos finalizados, em aplicações que envolvem a avaliação da distribuição dos componentes da formulação, do tamanho de partículas e da uniformidade da mistura, e a caracterização de formas polimórficas (CHAN; ELKHIDER; KAZARIAN, 2005; CHAN; HAMMOND; KAZARIAN, 2003; CHAN; KAZARIAN, 2006; GENDRIN; ROGGO; COLLET, 2008; MAZIVILA; OLIVIERI, 2018).

Sabendo que medicamentos irregulares muitas vezes diferem dos autênticos pela ausência de controle de qualidade, diversos estudos têm aplicado essas ferramentas também na verificação de autenticidade de medicamentos (GENDRIN; ROGGO; COLLET, 2008). Puchert e colaboradores (2010), por exemplo, estudaram a falsificação de comprimidos contendo o beta-bloqueador hemifumarato de bisoprolol através da metodologia de imageamento global por FT-NIR e análise multivariada de dados. Nesse estudo, em que foi possível identificar e determinar a distribuição dos componentes em medicamentos autênticos e falsificados, os autores indicaram que a verificação da homogeneidade desses comprimidos pode ser utilizada para a determinação de sua falsificação (PUCHERT *et al.*, 2010). Outros estudos que aplicaram o mapeamento por espectroscopia de infravermelho próximo incluem a avaliação de autenticidade de medicamentos a base de carbamazepina, lamivudina e citrato de sildenafil, todos utilizando métodos multivariados para a criação de mapas de distribuição de princípios ativos e excipientes (LOPES *et al.*, 2010; SABIN *et al.*, 2013; SABIN; ROCHA; POPPI, 2011).

O imageamento global por espectroscopia de infravermelho médio também já foi explorado em alguns estudos para a análise de autenticidade de medicamentos. O grupo de pesquisa composto por Ricci e colaboradores, por exemplo, aplicou a técnica de ATR-FTIR tradicional (RICCI *et al.*, 2007c) e a técnica  $\mu$ ATR-FTIR (RICCI *et al.*, 2007b) de para a análise de comprimidos de artesunato, criando mapas de distribuição de princípios ativos e excipientes, por método univariado, o que permitiu a identificação da composição das amostras e a sua classificação como autênticas ou inautênticas.

Lanzarotta e colaboradores (2011), por sua vez, optaram por comparar os resultados obtidos por ATR-FTIR convencional e pelo imageamento por  $\mu$ ATR-FTIR,

concluindo que as técnicas utilizadas são complementares. Enquanto o infravermelho tradicional é capaz de diferenciar comprimidos autênticos de inautênticos a partir da comparação de seus perfis espectrais com os produtos de referência, a técnica de imageamento por microespectroscopia permite a análise de distribuição de componentes minoritários da formulação, possibilitando detectar as mínimas diferenças qualitativas entre as formulações suspeitas e autênticas (LANZAROTTA *et al.*, 2011). Essa abordagem é especialmente relevante quando os produtos em análise possuem registro de todos os componentes de sua fórmula, como é o caso dos medicamentos comercializados no Brasil. Se a partir da análise microespectroscópica for detectado um excipiente ou princípio ativo que não foi descrito no registro do medicamento, é possível considerá-lo irregular mesmo sem realizar a análise química de um produto autêntico para comparação.

A interpretação de mapas de distribuição de componentes criados a partir das técnicas de microespectroscopia também é relevante no caso de falsificações mais elaboradas, em que os compostos da formulação podem encontrar-se nas mesmas quantidades que no produto autêntico, porém não são homogeneamente distribuídos no comprimido. Esse tipo de informação não poderia ser obtido através das técnicas espectroscópicas tradicionais, nem mesmo através das técnicas cromatográficas, em que poderiam ser detectados e quantificados os compostos da formulação, mas não poderia ser analisada a sua distribuição espacial. Por isso, as técnicas de mapeamento químico mostram-se promissoras não apenas no âmbito das análises periciais em medicamentos questionados, mas também na rotina de controle de qualidade de medicamentos.

Ainda assim, o único trabalho do qual se tem conhecimento de que o mapeamento espectroscópico foi aplicado para a análise de esteroides anabolizantes questionados foi conduzido por Rebiere e colaboradores (2016). Nesse estudo, os autores utilizaram a espectroscopia Raman para a criação de imagens químicas de comprimidos de metandrostenolona questionados, e obtiveram sucesso na classificação das amostras entre autênticas e inautênticas a partir dessa metodologia (REBIERE *et al.*, 2016). Até o presente momento, entretanto, não há conhecimento de estudos que aplicaram a técnica de Microespectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier no Modo Reflexão Total Atenuada

( $\mu$ ATR-FTIR) para a avaliação de autenticidade de esteroides anabolizantes, sendo o nosso trabalho pioneiro nesse sentido.

### **3.3.3. Processamento de dados hiperespectrais**

A distribuição espacial de componentes químicos em uma amostra é obtida a partir da extração de mapas de distribuição, formados por um conjunto de pixels cuja intensidade de luz ou coloração pode ser determinada a partir de diferentes métodos de análise, classificados em univariados e multivariados.

Os métodos univariados são aqueles em que uma única banda do espectro de infravermelho é utilizada para localizar a presença de um composto químico. Nesses casos, para calcular o valor relacionado a cada pixel da imagem, pode-se utilizar, por exemplo, a altura ou a área da banda característica da substância em questão (GENDRIN; ROGGO; COLLET, 2008).

Para a aplicação dos métodos univariados, portanto, é necessário obter informações prévias sobre os compostos presentes na amostra. Caso a formulação em análise seja desconhecida, os espectros de infravermelho obtidos deverão ser analisados em conjunto, de forma a reconhecer as bandas características específicas e bem resolvidas de cada analito presente na amostra, uma vez que não podem ser utilizadas bandas se sobreponham nos demais componentes (SACRÉ *et al.*, 2014). A sobreposição de bandas pode levar a criação de imagens químicas inadequadas, em que se observam sinais falsos positivos devido à presença de outros compostos com absorção no mesmo comprimento de onda escolhido para análise (CHAN; ELKHIDER; KAZARIAN, 2005).

Em contrapartida, os métodos multivariados utilizam toda a informação espectral para a construção da imagem química desejada, e podem ser classificados como técnicas de resolução, regressão e classificação (SACRÉ *et al.*, 2014). Nesse trabalho, foi aplicada a técnica de resolução denominada Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (MCR-ALS), um dos métodos mais utilizados atualmente para o processamento de dados hiperespectrais.

O MCR-ALS é um método quimiométrico de processamento de sinais, pertencente ao grupo de técnicas de análise de fatores, que tem como objetivo a recuperação de espectros puros e suas concentrações relativas em uma amostra, a partir da decomposição de uma matriz de dados com misturas de sinais (MARÇO *et al.*, 2014).

O MCR-ALS é aplicado na matriz de dados desdobrada e baseia-se na premissa de que a absorvância total de uma amostra é resultante da soma das absorvâncias individuais das substâncias que a compõe (GENDRIN; ROGGO; COLLET, 2008). Ou seja, um espectro misto pode ser decomposto em espectros de cada composto puro, mais o ruído experimental. Matematicamente, o método se baseia em um modelo bilinear conforme a Equação 1:

$$D = CS^T + E$$

**Equação 1**

Em que D é a matriz de dados instrumentais (espectros medidos), C a matriz referente à concentração relativa de cada substância pura,  $S^T$  a matriz de espectros puros dessas substâncias e E a matriz de resíduos não explicados pelo modelo (JAUMOT *et al.*, 2005).

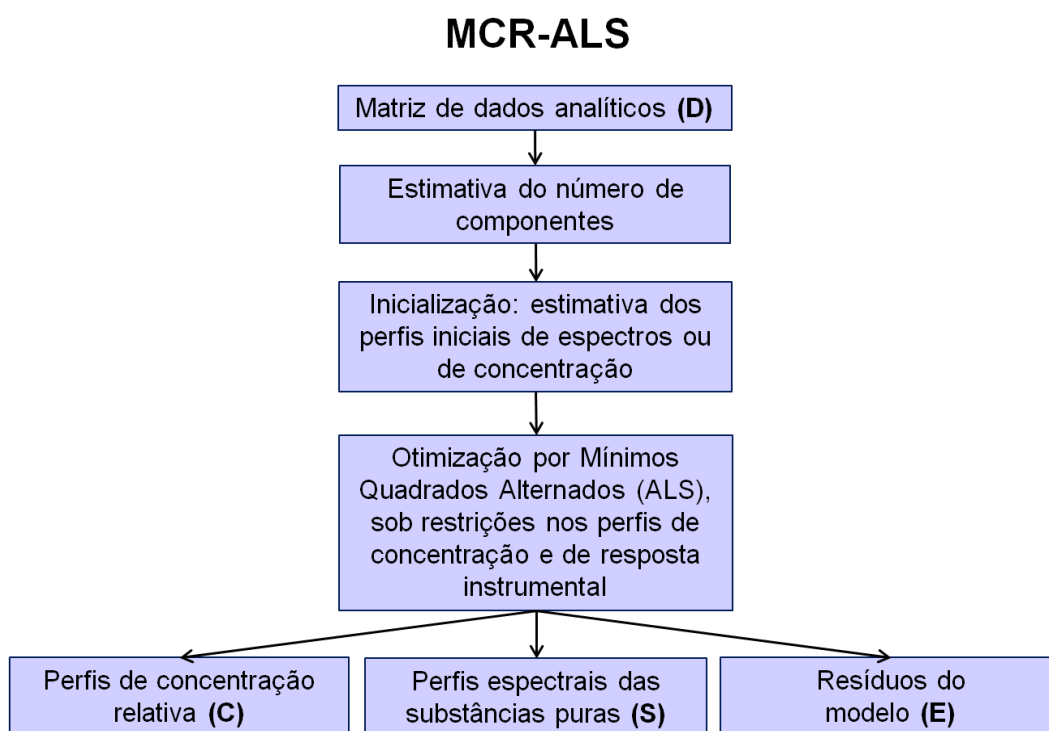
Para que o método MCR-ALS possa ser aplicado, é preciso inicialmente estimar o posto da matriz, que equivale ao número de componentes presentes no sistema. Se não há informação química prévia, este valor pode ser estimado, por exemplo, através da porcentagem de variância explicada por Decomposição em Valores Singulares (SVD) (MARÇO *et al.*, 2014; MAZIVILA; OLIVIERI, 2018).

Para seguir com o processo, é preciso conhecer os espectros ou as concentrações dos componentes puros presentes na matriz de dados. Quando não for possível obter essa informação previamente, pode-se estimá-la através de ferramentas matemáticas de aproximação iterativas (MARÇO *et al.*, 2014).

A partir dessas estimativas iniciais, o MCR-ALS realiza a otimização das matrizes de concentração e espectros por mínimos quadrados alternados. A cada processo iterativo, uma matriz  $D^*$  é reconstruída pelo produto das matrizes C e  $S^T$ , de forma a reduzir o erro de reconstrução até que se alcance o critério de convergência previamente estabelecido, que pode ser quando a variação de

resultados entre duas iterações consecutivas for abaixo de determinado valor ou quando um número máximo de iterações for atingido (DA-COL; DANTAS; POPPI, 2018; MARÇO *et al.*, 2014; SABIN; ROCHA; POPPI, 2011). Para restringir o número de soluções para a equação e aproximar mais o modelo da realidade, podem ser aplicadas restrições, como a de não negatividade, que impede que os valores de sinal ou de concentração sejam negativos.

Ao final do processo, obtêm-se os perfis espectrais puros, que permitem a identificação das substâncias presentes na amostra, e os perfis de concentrações, que podem ser utilizados para a criação dos mapas de distribuição de cada constituinte, além da matriz de ruídos residuais. A Figura 1 apresenta um esquema simplificado das etapas de aplicação do MCR-ALS em dados de espectroscopia vibracional.



**Figura 1.** Esquema simplificado das etapas de aplicação do MCR-ALS em dados de espectroscopia vibracional. Fonte: Adaptado de Mazivila, Olivieri, 2018.

A qualidade dos resultados de MCR-ALS pode ser verificada através de parâmetros que avaliam a dissimilaridade entre a matriz de dados experimental

original (D) e a matriz de dados obtida ao final do processo iterativo (D\*), como a porcentagem de falta de ajuste (%LOF) e a porcentagem de variância explicada (R<sup>2</sup>), determinados pelas Equações 2 e 3, respectivamente (DA-COL; DANTAS; POPPI, 2018; JAYARAMAN *et al.*, 2012).

$$\%LOF = 100 \sqrt{\frac{\sum e_{ij}^2}{\sum d_{ij}^2}} \quad \text{Equação 2}$$

$$R^2 = 100 \left( 1 - \frac{\sum e_{ij}^2}{\sum d_{ij}^2} \right) \quad \text{Equação 3}$$

Em que  $d_{ij}$  é um elemento da matriz de dados experimental original (D) e  $e_{ij}$  é o resíduo associado a esse elemento na matriz de dados reconstruída pelo MCR-ALS (D\*), calculado por  $d_{ij} - d_{ij}^*$  (JAYARAMAN *et al.*, 2012). Um bom modelo deve obter uma matriz D\* o mais parecido possível com D e, portanto, deve apresentar valores de %LOF mais próximos de zero (pouca informação na matriz de resíduos) e valores de R<sup>2</sup> mais próximos de 100% (maior parte da informação original expressa pelo modelo) (DA-COL; DANTAS; POPPI, 2018).

Nesse estudo, ambas as abordagens, univariada e multivariada, foram aplicadas para a análise dos dados obtidos por  $\mu$ ATR-FTIR, visando à estimativa de mapas de distribuição de componentes em comprimidos de esteroides anabolizantes questionados.

### 3.4. Cromatografia em fase gasosa

A cromatografia corresponde a um grupo diversificado de métodos de separação de substâncias com um princípio geral em comum: a distribuição dos componentes de uma amostra entre as fases móvel e estacionária. Na cromatografia em fase gasosa, a fase móvel utilizada é um gás inerte, geralmente nitrogênio, hidrogênio ou hélio, dependendo do tipo de detector e demanda analítica (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).



Diversos estudos aplicaram a técnica de cromatografia em fase gasosa (GC) para a análise de medicamentos anabolizantes questionados, em geral, utilizando a espectrometria de massas (MS) para a detecção dos analitos (COOPMAN; CORDONNIER, 2012; GRAHAM *et al.*, 2009; MUSSHOF; DALDRUP; RITSCH, 1997; NEVES; CALDAS, 2017; PELLEGRINI *et al.*, 2012).

A utilização da técnica de GC/MS permite que um único sistema separe e identifique misturas complexas de substâncias volatilizáveis por meio da análise do perfil de massas dos fragmentos de cada composto. Os softwares disponíveis para análises por GC/MS normalmente possuem espectrotescas de estruturas que são bastante completas, sendo possível caracterizar com boa assertiva as substâncias e refinar as necessidades analíticas requeridas para uma análise qualitativa precisa. Entretanto, a quantificação de substâncias por GC/MS é mais difícil de ser realizada, uma vez que a resposta quantitativa de um espectrômetro de massa não pode ser atribuída a um único fenômeno.

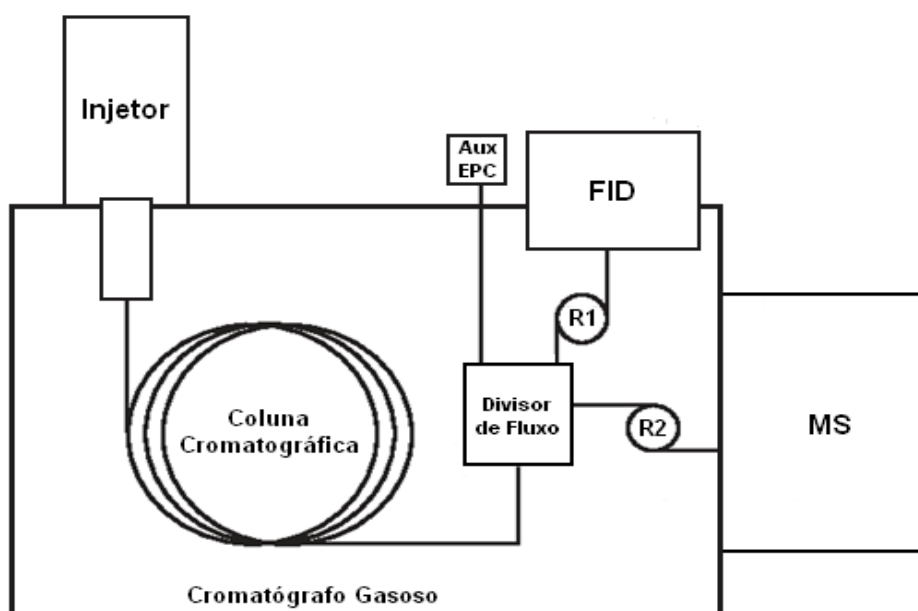
A resposta quantitativa de um detector de ionização de chamas (FID), por sua vez, está livre de alguns vieses, como àqueles provenientes da ionização, do analisador de massas ou do escaneamento e detecção dos íons obtidos. Métodos que utilizam FID são robustos e capazes de fornecer análises reprodutíveis e mais exatas. O FID responde a praticamente todos os compostos orgânicos, é resistente a flutuações pequenas no fluxo de gás, possui faixa de linearidade ampla, simplicidade de operação e rapidez de resposta (PACCHIAROTTA *et al.*, 2010; VISENTAINER *et al.*, 2014). Por outro lado, o FID tem aplicação limitada na área forense devido à perda de informação qualitativa, quando comparado aos detectores de massas.

Sendo assim, a combinação de ambas as técnicas para a análise de medicamentos anabolizantes questionados visa à obtenção de maiores informações acerca das amostras, o que é sempre desejável em análises forenses. O desenvolvimento de um método de análise simultânea GC/MS/FID, por sua vez, pode oferecer uma maneira mais rápida e precisa de se obter as informações de ambos os detectores, diminuindo erros e possibilidades de questionamentos legais.

### 3.4.1. Detecção simultânea

Um método cromatográfico pode ser desenvolvido para que os analitos de interesse sejam analisados por mais de um detector simultaneamente, a partir de uma única separação cromatográfica. Isso é possível a partir da divisão do fluxo de saída da coluna analítica para mais de um detector, utilizando acessórios denominados divisores de fluxo. A Figura 2 apresenta um esquema simplificado da divisão de fluxo em um GC/MS/FID.

A utilização de divisores de fluxo permite a obtenção simultânea de sinais de múltiplos detectores, com diferenças de tempos de retenção de poucos segundos, permitindo visualizar facilmente a correspondência entre os picos de um mesmo analito nos diferentes cromatogramas. Sendo assim, utilizando um método de GC/MS/FID, é possível realizar estimativas de proporções e análises quantitativas a partir de integração no cromatograma do FID, e confirmar a identidade da substância a partir do seu padrão de fragmentação de massas, ao analisar o pico correspondente a essa no cromatograma obtido pelo MS (MORGAN *et al.*, 2017; PACCHIAROTTA *et al.*, 2010).



**Figura 2.** Esquema simplificado de um cromatógrafo em fase gasosa com análise simultânea por detectores de ionização de chamas (FID) e espectrometria de massas (MS), através da utilização de divisor de fluxos, restritores capilares (R1 e R2) e controle pneumático eletrônico auxiliar (Aux EPC). Fonte: Adaptado de Agilent Technologies, 2006.

Quando se utilizam dois equipamentos diferentes para realizar a análise, alguns vieses são inseridos na comparação dos cromatogramas. Variações na coluna cromatográfica, gás de arraste, ajustes de pressão podem modificar os tempos de retenção dos analitos e inserir possibilidades de questionamentos nessa comparação. Além disso, se a mesma solução for utilizada para ambas as análises, não se pode descartar a possibilidade de modificação de sua composição no tempo decorrido entre uma injeção e a outra, acrescentando mais um fator de variação. Com o GC/MS/FID, esses vieses são eliminados, fornecendo resultados muito mais confiáveis, o que é extremamente importante para a análise forense.

Além disso, por adquirir mais informações em uma única análise cromatográfica, a utilização de divisores de fluxos poupa tempo e reduz a utilização de energia elétrica e de gases analíticos e os custos das análises instrumentais, trazendo mais vantagens para essa técnica.

Artigos que utilizam a técnica de detecção simultânea por GC/MS/FID foram encontrados na literatura para diversas finalidades, como análise de voláteis em sangue e urina, estudos de metabolômica em líquido cerebrospinal e urina, estudo de comportamento da pirólise de carvão, caracterização de voláteis em plantas medicinais, determinação de ésteres metílicos de ácidos graxos em óleos naturais e análise de solventes residuais em ingredientes farmacologicamente ativos (DE MATOS *et al.*, 2015; FANCY *et al.*, 2006; KAMATOU; KANBOLAT *et al.*, 2018; NGUYEN *et al.*, 2015; PACCHIAROTTA *et al.*, 2010; PANOVSKA *et al.*, 2016; TISCIONE *et al.*, 2013; VILJOEN, 2017). Entretanto, nenhum foi aplicado à análise de esteroides anabolizantes. Dessa forma, nosso trabalho tem caráter pioneiro na exploração da aplicabilidade da técnica de GC/MS/FID para a análise de produtos esteroides anabolizantes questionados.



#### **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

---



## 4.1. Microespectroscopia de infravermelho ( $\mu$ ATR-FTIR)

### 4.1.1. Descrição das amostras

Foram analisados trinta e dois comprimidos suspeitos de irregularidade, rotulados como medicamentos anabolizantes, supostamente de sete princípios ativos diferentes: metandrostenolona (ou metandienona, n = 11), oxandrolona (n = 9), oximetolona (n = 5), mesterolona (n = 3), 4-clorodehidrometiltestosterona (ou turinabol oral, n = 2), propionato de testosterona (n = 1) e acetato de metenolona (n = 1). Um comprimido de cada suposto fabricante e lote foram compartilhados para essa pesquisa durante o período dos exames periciais. A Figura 3 apresenta alguns exemplos de comprimidos analisados:

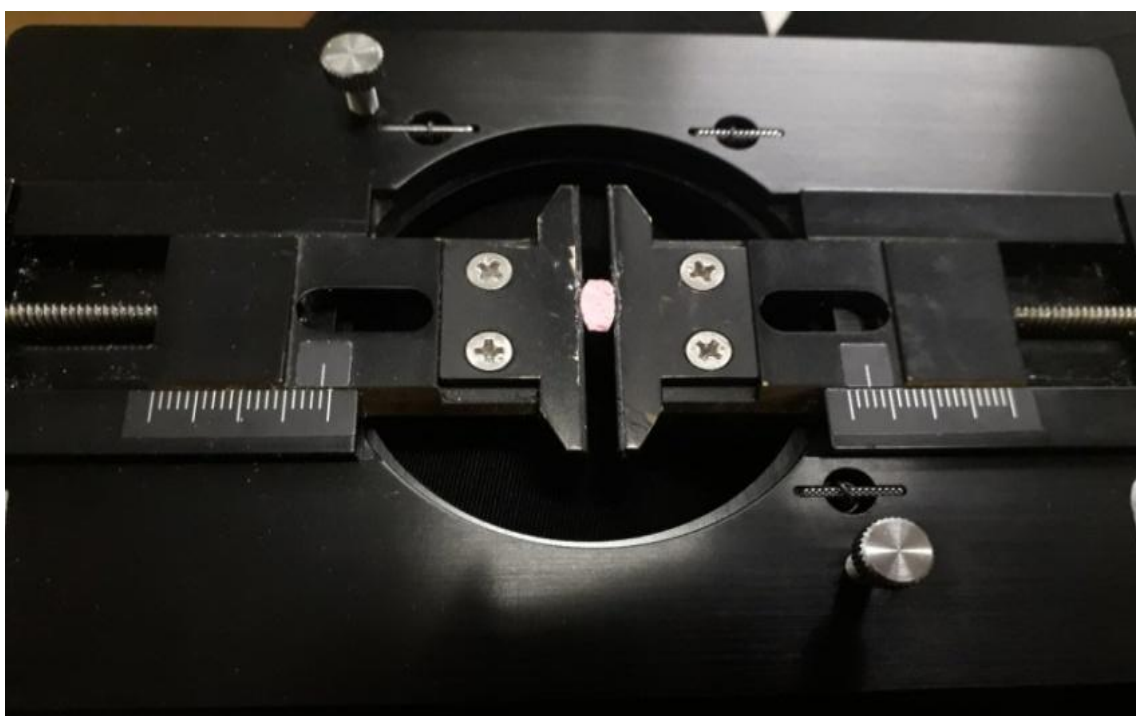


**Figura 3.** Fotografias de algumas das amostras de comprimidos questionados compartilhadas pela Polícia Federal para as análises.

As amostras eram provenientes de apreensões da Polícia Federal em contêineres aportados no litoral no Estado do Rio Grande do Sul, e foram enviadas para a análise pericial no Setor Técnico-Científico da Polícia Federal do Rio Grande do Sul (SETEC/SR/PF/RS) em suas embalagens, que consistiam em caixas, frascos, envelopes ou cartelas com inscrições em língua estrangeira (inglês). Não continham informações acerca dos excipientes da formulação, apenas do suposto princípio ativo e sua concentração.

#### 4.1.2. Preparo das Amostras

Para a análise por  $\mu$ ATR-FTIR, as amostras foram cortadas ao meio com auxílio de bisturi, de forma a expor uma superfície achatada para a análise microscópica. Para melhorar a obtenção do foco para as imagens microscópicas e a superfície de contato da amostra com o cristal de ATR, a superfície foi nivelada com a lâmina para que ficasse mais uniformemente plana possível. Após preparo inicial, a amostra foi presa em um suporte acessório para microscopia, *Micro-Vice Holder* (ST-Japan, Inc.), de forma a manterem-se imóveis durante a análise. Vide Figura 4.



**Figura 4.** Acessório para microscopia, *Micro-Vice Holder* (ST-Japan, Inc.), imobilizando uma amostra de comprimido questionado.

#### 4.1.3. Aquisição dos dados

Os espectros de infravermelho médio foram adquiridos através do Microscópio FT-IR LUMOS (*Bruker Optics*, Alemanha), operando em modo de refletância total atenuada, equipado com micro ATR de cristal de germânio, plataforma de amostras motorizada, detector de mercúrio cádmio telúrio (MCT) resfriado por nitrogênio e fonte global de carbeto de silício.



Inicialmente, para cada amostra foi realizada uma inspeção visual e a coleta de uma imagem microscópica da superfície do comprimido a ser analisada, com luminosidade de 10%. A partir dessa imagem, foi registrada uma região de interesse para análise através da criação de uma matriz de 7 x 7 pontos de coleta, medindo 600 x 600  $\mu\text{m}$ . Utilizando a plataforma de amostras motorizada do FT-IR LUMOS, para cada posição pré-definida um espectro de infravermelho médio foi medido e registrado, associado com sua informação espacial, até que todos os quarenta e nove pontos da matriz fossem registrados. Os espectros foram obtidos com 32 varreduras, na faixa de 600 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e com abertura de 100 x 100  $\mu\text{m}$ .

Antes da aquisição dos espectros das amostras, o acessório ATR foi posicionado no ar e o espectro de fundo adquirido. Entre cada amostra, o cristal de ATR foi limpo com álcool etílico 70%.

#### **4.1.4. Tratamento dos dados**

O mapeamento espectral foi realizado através dos métodos univariado e multivariado, a fim comparar qual seria mais adequado para este tipo de análise.

O método univariado foi aplicado no software do equipamento, OPUS-IR (*Bruker Optics*, Alemanha, versão 7.8), através da integração de bandas características dos compostos, após aplicação dos pré-processamentos normalização (*offset correction*) e alisamento baseado no método de Savitzky-Golay com janela de nove pontos, além da correção para os sinais do vapor de água e do dióxido de carbono, também disponível no software OPUS-IR.

Inicialmente, foi realizada a análise visual dos quarenta e nove espectros obtidos para cada amostra, de forma a verificar perfis semelhantes a algum princípio ativo. Em seguida, foi efetuada a busca desses espectros nas espectrotecas disponíveis no software, através de busca simples (um componente) ou análise de misturas (dois ou mais componentes). A escolha das bandas de absorção características de cada componente foi realizada através da análise dos espectros presentes na espectroteca para as substâncias puras, sendo escolhidas por sua alta

resolução e intensidade forte. As faixas utilizadas para cada analito encontram-se descritas na seção de Resultados e Discussão desse trabalho.

Para cada amostra, uma banda característica correspondente ao princípio ativo descrito na embalagem do medicamento foi integrada. Nos casos em que espectros de outros princípios ativos foram encontrados, uma banda característica do outro composto detectado também foi integrada. Os valores de integração foram transformados em gráficos de duas e três dimensões que representam a distribuição do componente na área analisada. O esquema de cores do OPUS-IR adotado para a construção dos mapas foi o “*Jet*”, cuja escala vai do azul escuro (menos intenso) até o vermelho (mais intenso). Para facilitar a comparação entre os mapas obtidos, foi adotada uma escala de intensidade padrão para cada princípio ativo. Determinou-se que a intensidade mínima das escalas seria sempre igual à zero. Por outro lado, a escolha das intensidades máximas foi realizada após análise de todos os mapas obtidos para o princípio ativo. Os valores escolhidos para cada analito encontram-se descritos na seção de Resultados e Discussão desse trabalho.

O método multivariado foi desenvolvido no Software MATLAB (versão R2012b). O pré-tratamento dos resultados foi realizado utilizando o pacote “*Multivariate Data Handling (Data\_hand\_gui)* – Versão especial para a 3ª Escola de Inverno de Quimiometria – 3ºWSC”, criado pelo Prof. Adriano de Araújo Gomes (IQ/UFRGS). Foi aplicada a padronização normal de sinal (SNV) seguida da correção de linha de base (*offset correction*).

O mapeamento foi realizado através do método de MCR-ALS, utilizando o pacote “*MCR-ALS 2.0 Toolbox*” (JAUMOT; DE JUAN; TAULER, 2015). Os parâmetros utilizados para o MCR-ALS foram: estimativa do posto da matriz por Decomposição em Valores Singulares (SVD), estimativa inicial por método baseado na aproximação da variável pura (PURE) com 10% de ruído permitido, aplicação da restrição de não negatividade através do algoritmo de mínimos quadrados não negativos rápido (FNNLS) para perfis de concentração e de resposta instrumental e normalização da matriz de espectros puros (espectros divididos pela normalização Euclidiana). O critério de convergência adotado foi obtenção de diferenças relativas nos desvios padrão dos resíduos inferiores a 0,05% em dois ciclos iterativos consecutivos ou o alcance do limite de 500 iterações. Os indicadores de qualidade

porcentagem de falta de ajuste e porcentagem de variância explicada foram avaliados e os perfis espectrais obtidos foram comparados com espectros de referência de princípios ativos e excipientes, disponíveis nas espectrootecas que acompanharam o software OPUS-IR.

## **4.2. Cromatografia em fase gasosa (GC/MS/FID)**

### **4.2.1. Descrição das amostras e materiais**

Foram analisadas vinte amostras de medicamentos questionados (doze comprimidos e oito cápsulas) oriundas de apreensões da Polícia Federal em contêineres aportados no litoral do Estado do Rio Grande do Sul e encaminhadas para exame pericial no SETEC/SR/PF/RS. Tais amostras possuíam suspeita de irregularidade, estando rotuladas como medicamentos anabolizantes de cinco fabricantes e três princípios ativos diferentes: oxandrolona, metandrostenolona e mesterolona. As amostras foram enviadas com suas embalagens (caixas, frascos, envelopes ou cartelas), as quais continham inscrições em língua estrangeira (inglês) apenas sobre o suposto princípio ativo e sua concentração, porém nada sobre os excipientes da formulação. Duas amostras de cada suposto fabricante e lote foram compartilhados para essa pesquisa durante o período dos exames periciais, totalizando as vinte amostras.

Soluções de trabalho de referência para cada analito foram obtidas a partir do banco de padrões e amostras de referência do Setor Técnico-Científico da Polícia Federal no estado do Rio Grande do Sul (SETEC/SR/PF/RS) para os seguintes esteroides anabolizantes: cipionato de boldenona, cipionato de testosterona, decanoato de nandrolona, enantato de testosterona, estanozolol, fempropionato de nandrolona, metandrostenolona, oxandrolona, oximetolona e propionato de testosterona. As soluções utilizadas possuíam como solvente álcool metílico e concentrações de soluto iguais a 2,5 mg/mL (2500 ppm), 1 mg/mL (1000 ppm) e 0,1 mg/mL (100 ppm). O reagente álcool metílico P.A. (Neon, 99,85%) utilizado para a extração das amostras foi obtido por intermédio do INCT Forense.

#### 4.2.2. Preparo das amostras

Duas unidades de cada fabricante e lote foram amostradas para a análise. Comprimidos foram pulverizados manualmente com almofariz e pistilo de vidro, e cápsulas foram abertas para obtenção da mistura de pós. Para cada amostra, previamente homogeneizada, três frações equivalentes a 10% de sua massa total foram alíquotadas e transferidas para tubos de centrifugação. As amostras foram pesadas em balança analítica Sartorius modelo MC210P.

As soluções para análise foram preparadas por extração sólido-líquido, através da adição de 2,5 mL de metanol, homogeneização em vórtex por 10 segundos e sonicação por 10 minutos em banho ultrassônico. As soluções resultantes foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos, e alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram transferidas para vials e analisadas por cromatografia em fase gasosa. O preparo de amostra foi baseado em metodologia pré-desenvolvida em projeto de pós-doutorado do grupo de pesquisa (SANTOS M. K., ainda não publicado).

#### 4.2.3. Aquisição dos dados

A aquisição de dados foi realizada empregando de forma simultânea GC/MS/FID através de equipamento adquirido pelo projeto INCT Forense e localizado no SETEC/SR/PF/RS.

Utilizou-se cromatógrafo em fase gasosa modelo 7890B, equipado com amostrador automático modelo CombiPAL RS 85G767 – 64120, divisor de fluxo bidirecional com gás *makeup* modelo G3180B, detector de ionização de chamas e detector de massas modelo 5977B (*Agilent Technologies*).

Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida (5%-fenil)-metilpolisiloxano de dimensões 30 m x 250 µm x 0,25 µm (HP-5MS, Agilent 19091S-433UI, *Agilent Technologies*). A porção final da coluna foi conectada ao divisor de fluxo bidirecional, o qual foi configurado de acordo com as instruções do fabricante. Restritores capilares de sílica fundida desativada com dimensões iguais a 1,62 m x 150 µm e 1

m x 100 µm foram utilizados para conectar o divisor de fluxo ao FID e ao MS, respectivamente. A relação de divisão de fluxo entre FID e MS obtida com essa configuração foi constante durante toda a análise e igual a 2,58.

O método utilizado nesse estudo foi adaptado daquele desenvolvido e validado pelos peritos criminais federais do SETEC/SR/PF/RS para a análise de medicamentos questionados por GC/MS. Os parâmetros instrumentais do método adaptado estão descritos no Quadro 1.

**Quadro 1.** Parâmetros do método para análise de esteroides anabolizantes por Cromatografia em fase Gasosa com detecção simultânea por Espectrometria de Massas e Ionização de Chamas.

Parâmetro	Configuração do método
Volume de injeção:	1 µL
Temperatura do injetor:	280 °C
<i>Split Ratio</i> :	10 : 1
<i>Split Flow</i> :	15 mL/min
Temperatura inicial:	100°C
Programa de temperatura	100°C – 2 minutos
Tempo total de corrida:	33 minutos
Temperatura pós-corrida:	100°C
Fluxo gás de arraste (Hélio):	1,5 mL/min
Temperatura MS <i>transfer line</i> :	290°C
Temperatura fonte de íons:	230°C
Temperatura quadrupolo:	150°C
Modo de ionização:	Impacto de Elétrons
Energia de impacto:	70 ev
Modo de aquisição:	<i>Scan</i> (faixa 30-350 m/z)
Temperatura FID:	300°C
Gás <i>Makeup</i> FID:	N <sub>2</sub>
Fluxo de N <sub>2</sub> :	25 mL/min
Fluxo de H <sub>2</sub> :	30 mL/min
Fluxo de Ar sintético:	300 mL/min

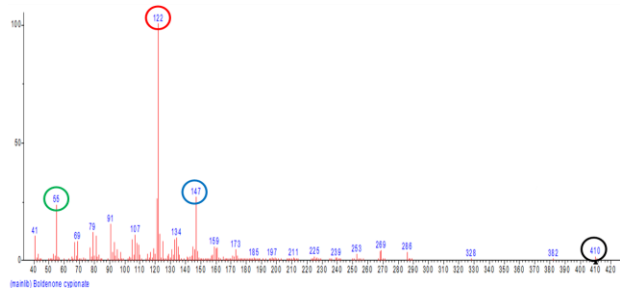
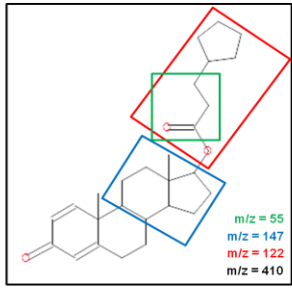
#### 4.2.1. Tratamento dos dados

Os Cromatogramas de Íons Totais (TIC) resultantes das análises por GC/MS/FID foram analisados através da avaliação dos espectros de massas obtidos para cada substância. Esses foram comparados com os espectros de referência disponíveis no programa de buscas de espectros de massas do Instituto Nacional de

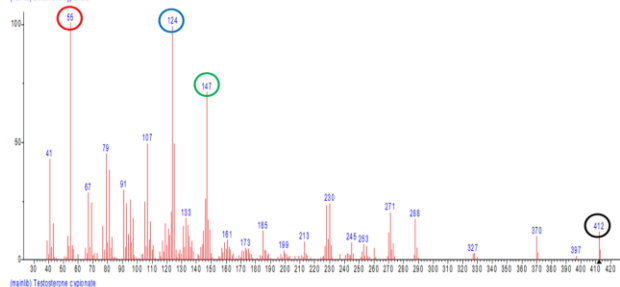
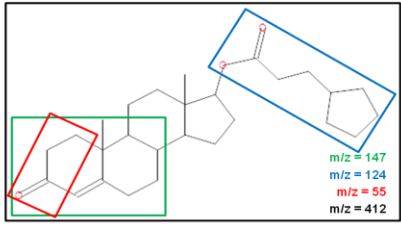
Padrões e Tecnologia dos Estados Unidos (NIST, versão 2.0) e com aqueles obtidos através das amostras de referência. A Figura 5 apresenta os espectros de massas e alguns dos principais fragmentos dos analitos estudados, obtidos através da NIST.

Após identificação dos princípios ativos pela espectrometria de massas, os picos cromatográficos obtidos para cada substância na ionização de chamas foram atribuídos e integrados, e suas respectivas áreas registradas em planilha, junto à média e ao desvio padrão para cada triplicata. Por fim, a partir das médias obtidas para cada amostra, foi realizada a comparação da proporção de princípios ativos entre os medicamentos de mesmo fabricante e lote, visando uma estimativa da homogeneidade entre doses unitárias.

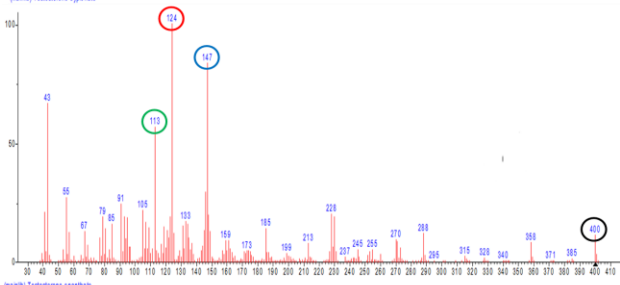
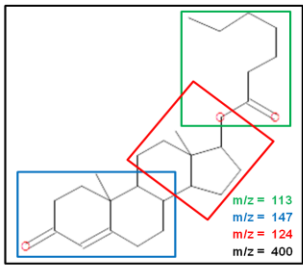
**A**



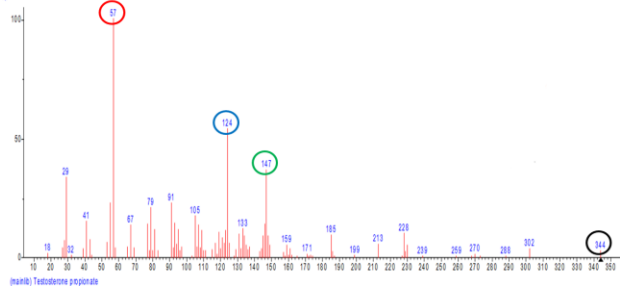
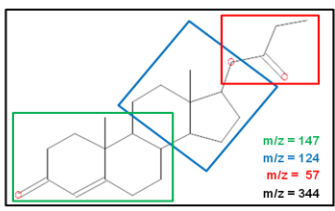
**B**



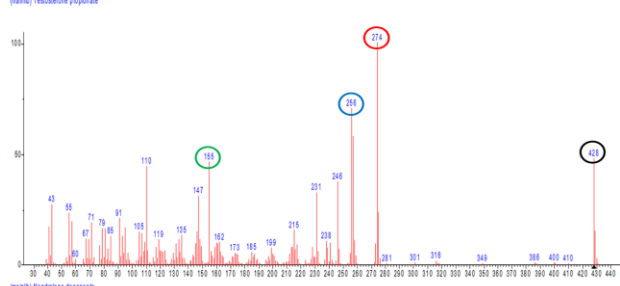
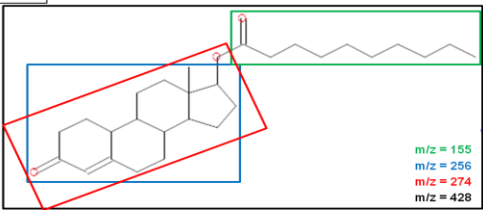
**C**



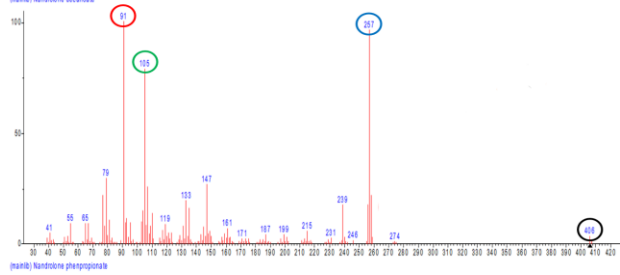
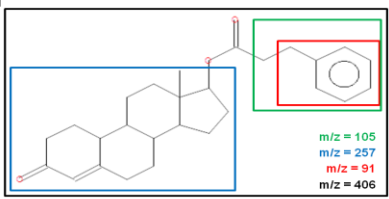
**D**



**E**

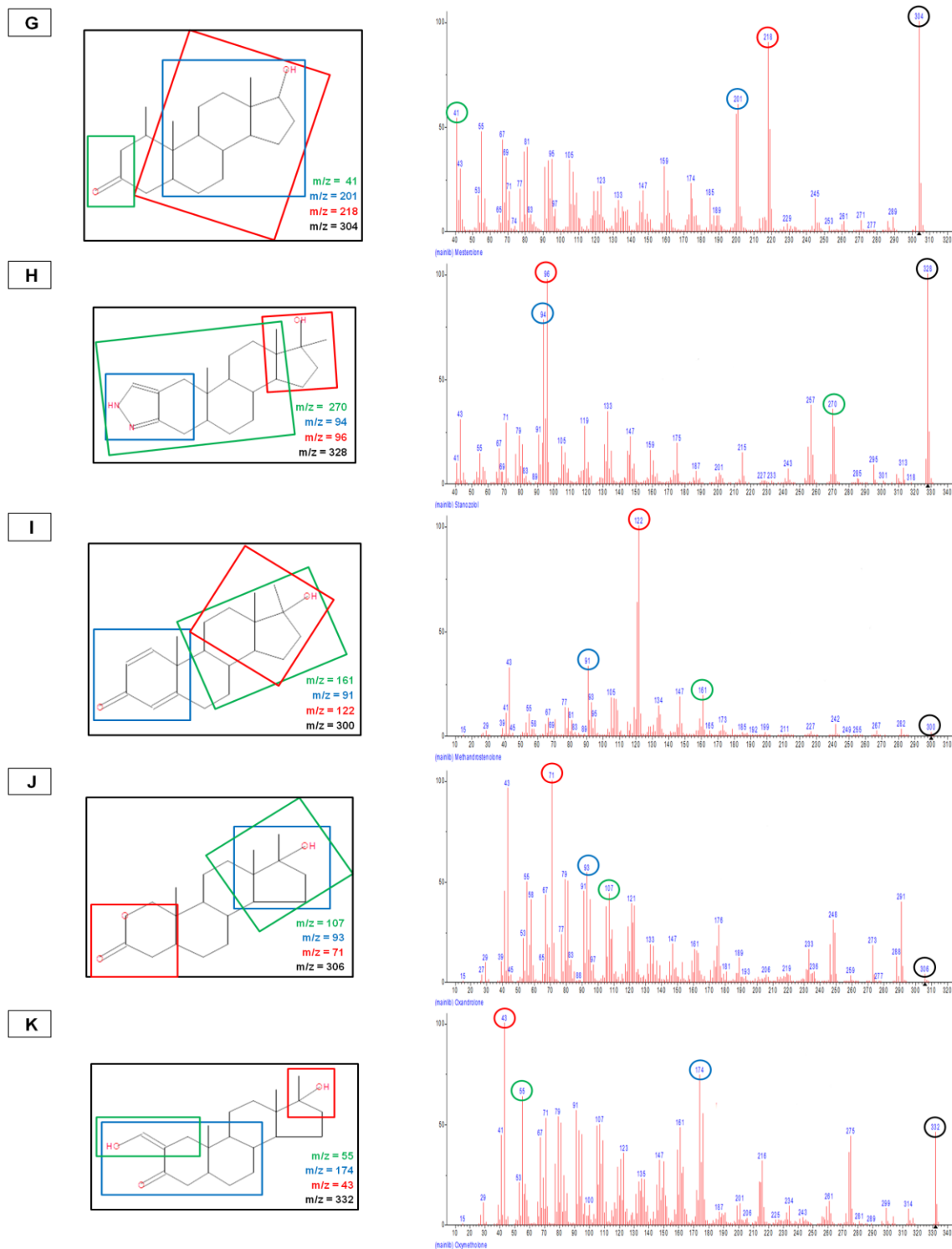


**F**



Continua

Continuação



**Figura 5.** Perfil de fragmentação de massas dos esteroides anabolizantes estudados: cipionato de boldenona **(A)**, cipionato de testosterona **(B)**, enantato de testosterona **(C)**, propionato de testosterona **(D)**, decanoato de nandrolona **(E)**, fempropionato de nandrolona **(F)**, mesterolona **(G)**, estanozolol **(H)**, metandrostenolona **(I)**, oxandrolona **(J)** e oximetolona **(K)**.



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

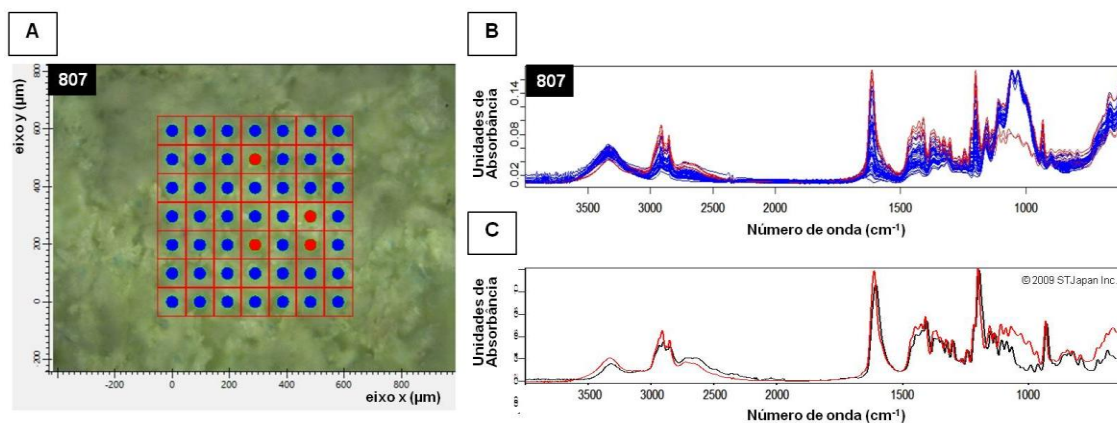
---



## 5.1. Resultados e discussão das análises por $\mu$ ATR-FTIR

Foi possível realizar a análise de trinta e dois comprimidos suspeitos de irregularidade, rotulados como medicamentos anabolizantes, através da técnica de  $\mu$ ATR-FTIR.

Em vinte e seis amostras, após análise visual de todos seus espectros, foi possível diferenciar os pontos da matriz em que princípios ativos predominaram sobre os demais componentes do comprimido. Isso se deve ao fato de essas substâncias, embora presentes em concentrações baixas na amostra, estarem em maior concentração relativa naquele ponto específico da matriz, permitindo a obtenção de um espectro mais puro. Vide exemplo na Figura 6.



**Figura 6.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR da amostra de comprimido questionado codificada como 807. **A.** Imagem microscópica do comprimido em análise, com a marcação de todos os pontos da matriz de espectros, sendo os de números 18, 20, 27 e 39 destacados com a cor vermelha por apresentarem espectros semelhantes ao do princípio ativo oximetolona. **B.** Espectros obtidos para cada ponto de coleta, sendo os de número 18, 20, 27 e 39, semelhantes ao do princípio ativo oximetolona, destacados na cor vermelha dentre os espectros semelhantes a excipientes, apresentados em azul. **C.** Resultado da pesquisa simples do espectro coletado no ponto 20 da matriz, em que foi possível identificar a presença do princípio ativo oximetolona, sendo em vermelho o espectro da amostra e, em preto, o espectro de referência (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete*, Vol. 2 – © 2009 STJapan Inc.).

De maneira a confirmar a identificação do princípio ativo, foram realizadas buscas simples e de misturas em bancos de espectros de ATR-FTIR disponíveis no software. Em alguns casos, apenas a pesquisa simples já foi suficiente para a

confirmação do princípio ativo, enquanto em outros, embora o espectro apresentasse bandas características de algum composto conhecido, nem mesmo a pesquisa de misturas foi capaz de identificá-lo.

O Quadro 2 traz um resumo dos resultados obtidos. Os fabricantes de medicamentos envolvidos nos exames foram codificados. Nesta primeira etapa já foi possível identificar que as amostras de números 739, 747, 775, 787 e 791 (cinco do total de trinta e duas) eram falsificadas, apenas através da busca dos espectros de infravermelho nas espectrotecas. Isso porque apresentavam pelo menos um princípio ativo diferente daquele descrito em sua embalagem.

Das cinco amostras falsificadas, duas (codificadas como 739 e 747) apresentavam embalagem de mesmo suposto fabricante (codificado como R). Mesmo sendo produtos rotulados como princípios ativos diferentes, ambos foram adulterados com a mesma substância, propionato de testosterona. Isso vem ao encontro dos resultados obtidos por Neves, Marcheti e Caldas (2013), que concluíram, a partir de levantamento de dados acerca das falsificações de produtos anabolizantes no Brasil, que a testosterona e seus ésteres eram responsáveis por aproximadamente 45% dos casos de detecção de princípios ativos não declarados nos rótulos. Ainda, pode-se observar que análise da terceira amostra desse mesmo suposto fabricante (codificada como 743), também confirmou a presença do propionato de testosterona em sua formulação, indicada na embalagem. Esse resultado pode estar relacionado com achados de outro estudo conduzido por nosso grupo de pesquisa, no qual Ortiz e colaboradores (2013a) verificaram que uma mesma mistura farmacêutica de pós pode ser utilizada para a falsificação de diferentes medicamentos, inclusive aqueles que supostamente possuiriam outro princípio ativo em sua formulação, o que poderia ser confirmado por outras análises.

Quanto às amostras cuja análise não resultou na detecção de princípios ativos, porém, não é possível afirmar sua inautenticidade. Assim como elas podem realmente apresentar apenas excipientes em sua formulação, não se pode descartar a possibilidade de o espaço amostral escolhido para a análise não ter contemplado a presença do princípio ativo, especialmente naqueles produtos que possuem baixas concentrações de princípios ativos, sendo necessário encaminhamento para outras ferramentas analíticas.

**Quadro 2.** Resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR.

Código	Fabricante	Dose descrita (mg)	Princípios ativos descritos nas embalagens recebidas	Princípios Ativos identificados pela técnica de $\mu$ ATR-FTIR
591	U	5	Metandrostenolona	Nenhum
715	P	10	Oxandrolona	Oxandrolona
716	P	10	Oxandrolona	Oxandrolona
717	P	10	Oxandrolona	Oxandrolona
721	P	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
725	P	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
729	P	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
733	P	10	Metandrostenolona	Nenhum
734	P	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
735	P	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
739	R	50	Oximetolona	Propionato de Testosterona
743	R	15	Propionato de Testosterona	Propionato de Testosterona
747	R	5	Oxandrolona	Propionato de Testosterona
759	R	10	Metandrostenolona	Nenhum
771	C	10	Oxandrolona	Oxandrolona
775	C	10	4-Clorodehidrometiltestosterona	Acetato de Clostebol
787	C	50	Oximetolona	Oximetolona + Metandrostenolona
791	K	10	Metandrostenolona	Citrato de Sildenafil + Metandrostenolona
803	K	10	Oxandrolona	Oxandrolona
807	K	50	Oximetolona	Oximetolona
819	A	25	Acetato de Metenolona	Acetato de Metenolona
823	A	10	Oxandrolona	Oxandrolona
831	A	10	4-Clorodehidrometiltestosterona	4-Clorodehidrometiltestosterona
835	A	50	Oximetolona	Oximetolona
839	L	25	Mesterolona	Nenhum
843	L	50	Oximetolona	Oximetolona
847	L	5	Oxandrolona	Nenhum
855	L	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
863	A	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
893	A	25	Mesterolona	Mesterolona
929	S	5	Oxandrolona	Nenhum
977	B	25	Mesterolona	Mesterolona

**Legenda:** Em verde, amostras cujo princípio ativo detectado correspondeu ao descrito nas embalagens. Em amarelo, amostras cuja análise por  $\mu$ ATR-FTIR não foi capaz de detectar princípios ativos. Em vermelho, amostras cujo princípio ativo detectado não correspondeu ao descrito nas embalagens.

Além disso, os espectros resultantes dessa análise são misturas de sinais de todos os componentes presentes na região amostrada. Por isso, em alguns casos pode ser que o espaço amostral tenha contemplado a presença de princípios ativos, mas os seus sinais tenham ficado tão sobrepostos pelos de outros compostos que o algoritmo de pesquisa de misturas do OPUS-IR não tenha conseguido resolvê-los. A utilização do MCR-ALS pode ajudar a resolver esses casos e, por isso, essa discussão será retomada mais adiante.

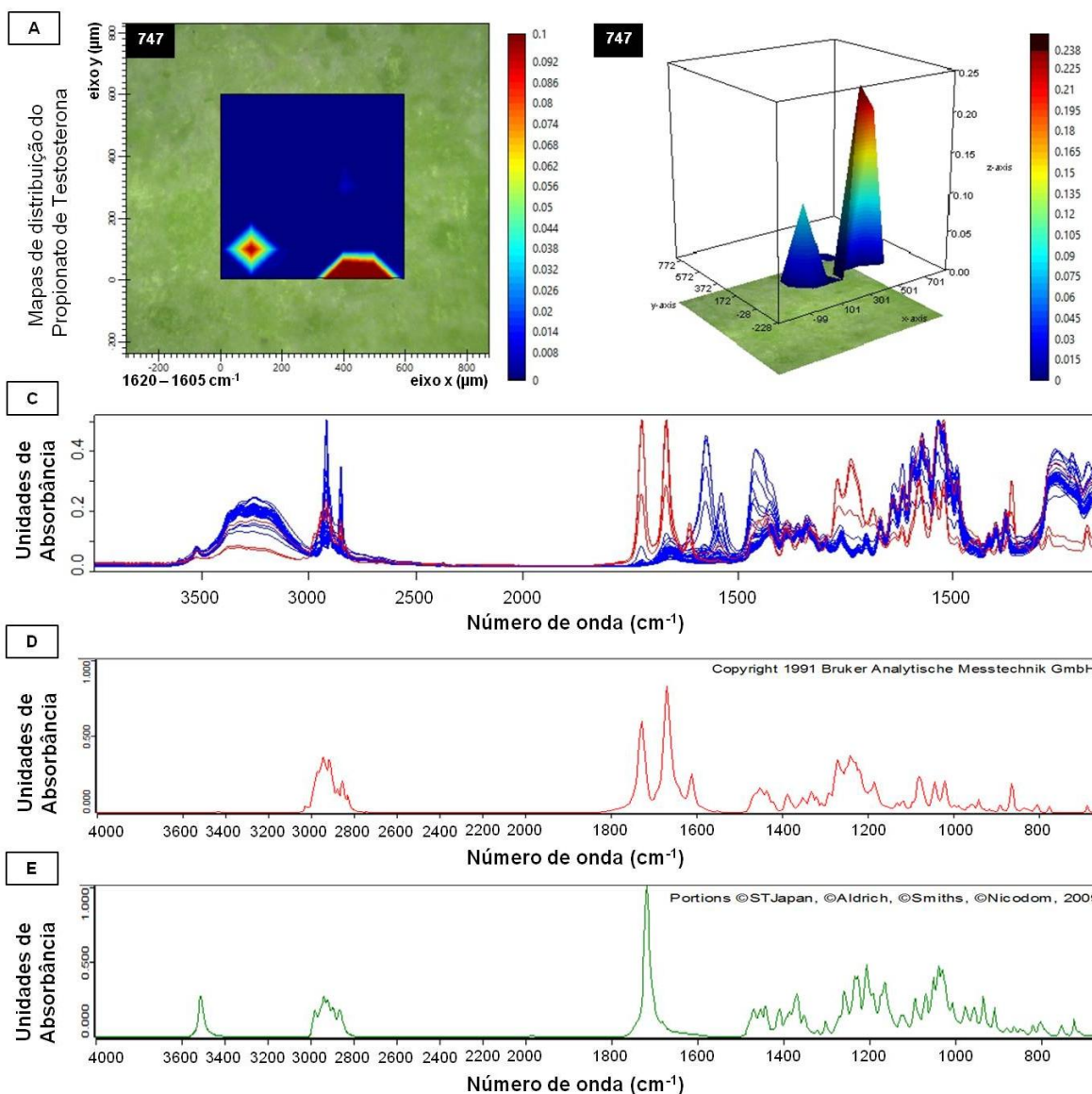
Diferentemente de outras técnicas, como a espectroscopia tradicional e as cromatografias, a microespectroscopia de infravermelho permite a obtenção de informações químicas e espaciais simultaneamente, permitindo a criação de mapas de distribuição de componentes na amostra. Nesse sentido, o segundo passo desse estudo foi aplicar dos métodos univariado e multivariado para a criação das imagens químicas.

O primeiro a ser aplicado foi o método univariado de mapeamento, através da integração de uma banda característica do princípio ativo descrito na embalagem e/ou encontrado nas buscas da espectroteca. Os parâmetros utilizados para a criação dos mapas de distribuição foram escolhidos experimentalmente para cada composto e estão descritos no Quadro 3.

**Quadro 3.** Parâmetros utilizados para a criação dos mapas de distribuição univariados de princípios ativos.

Princípio Ativo	Número CAS	Faixa de números de onda integrada (cm <sup>-1</sup> )	Escala Imagem 2D	Escala Imagem 3D
Acetato de Clostebol	855-19-6	1690 - 1675	0,00 - 1,00	0,00 - 1,00
Acetato de Metenolona	434-05-9	1740 - 1725	0,00 - 0,35	0,00 - 0,35
Citrato de Sildenafil	171599-83-0	1590 - 1575	0,00 - 0,20	0,00 - 0,30
Mesterolona	1424-00-6	1710 - 1695	0,00 - 0,15	0,00 - 0,15
Metandrostenolona	72-63-9	1665 - 1650	0,00 - 0,20	0,00 - 0,30
Oxandrolona	53-39-4	1725 -1710	0,00 - 1,00	0,00 - 1,50
Oximetolona	434-07-1	1625 - 1610	0,00 - 0,40	0,00 - 0,50
Propionato de Testosterona	57-85-2	1620 - 1605	0,00 - 0,10	0,00 - 0,25
4-Clorodehidrometiltestosterona	2446-23-3	1590 - 1575	0,00 - 0,50	0,00 - 0,50

Apresentamos a seguir quatro exemplos de mapas de distribuição criados a partir do método univariado de integração de bandas, começando pela Figura 7, que traz um exemplo de amostra na qual foi detectado um princípio ativo diferente do que o descrito na embalagem.



**Figura 7.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR de amostra de comprimido questionado, rotulada como oxandrolona e codificada para esse estudo como 747. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica do propionato de testosterona, compreendida entre 1620 e 1605  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra, sendo em azul os compatíveis com excipientes, e em vermelho, os que apresentam bandas características do princípio ativo propionato de testosterona. **C.** Espectro de referência da substância propionato de testosterona (Espectroteca PHARMA.A. S01 – Bruker). **D.** Espectro de referência da substância oxandrolona (Espectroteca ATR-FTIR Forensics Library, Vol. 2 – Portions ©STJapan, ©Aldrich, ©Smiths, ©Nicodom, 2009).

O rótulo do produto codificado como nº 747, cujos resultados estão apresentados na Figura 7, apresentava a substância oxandrolona como seu princípio ativo, porém, as análises realizadas indicaram a presença do fármaco propionato de testosterona.

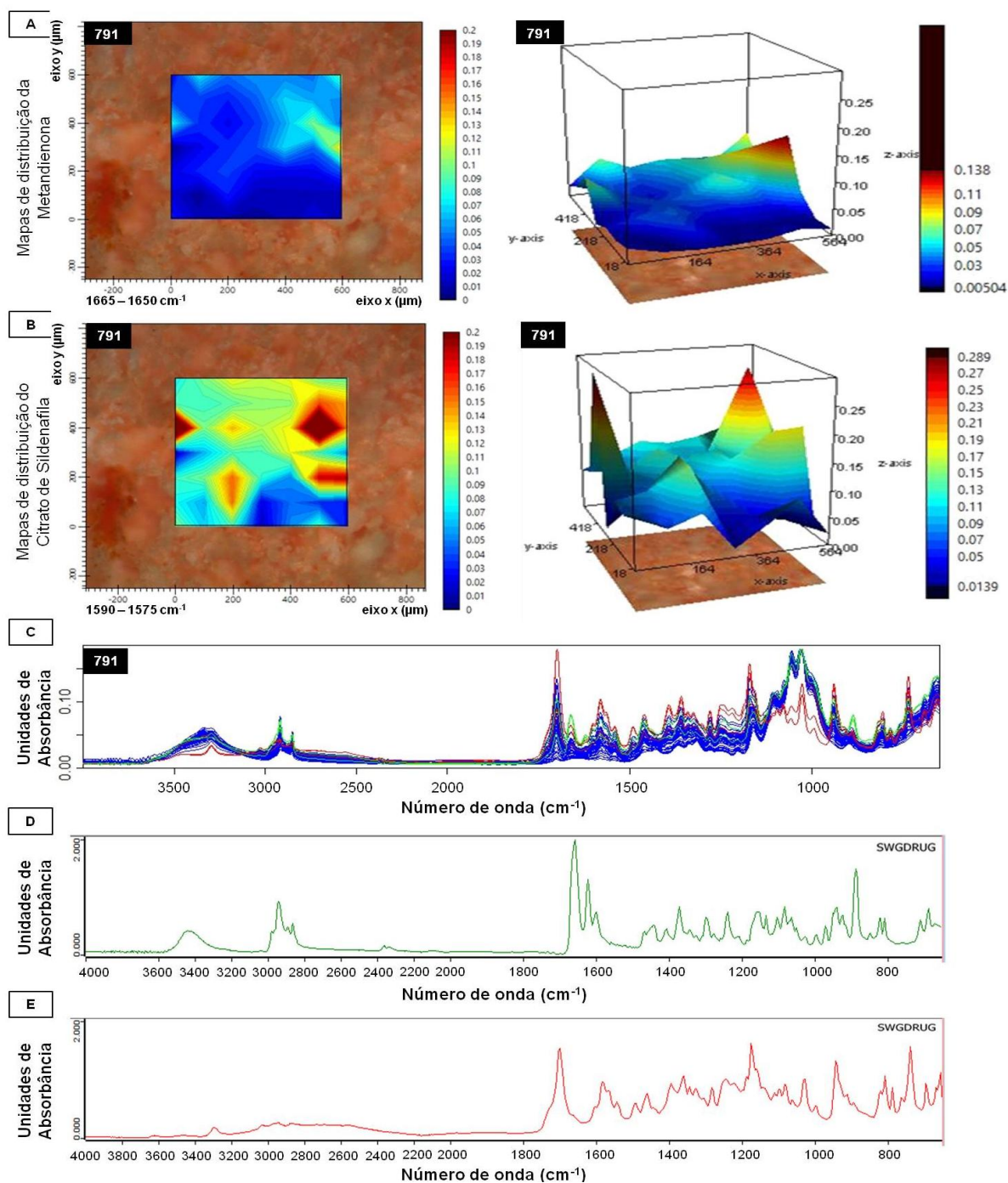
A simples inspeção visual dos perfis espectrais obtidos para todos os pontos de coleta da amostra permitiu a visualização de alguns espectros, destacados em vermelho (Figura 7C), aparentemente compatíveis com o espectro de referência do princípio ativo propionato de testosterona (Figura 7D), enquanto os demais apresentaram semelhança apenas com espectros de referência de excipientes. A confirmação do resultado visual foi feita através da pesquisa dos espectros experimentais nas espectrotescas.

Por sua vez, a integração da banda característica do propionato de testosterona permitiu a criação de imagens químicas de duas e três dimensões demonstrando a distribuição desse componente na amostra. As regiões avermelhadas (Figura 7A) indicam a aquisição de espectros com intensidade acima de zero entre 1620 e 1605  $\text{cm}^{-1}$ , banda que se mostrou intensa no espectro da substância propionato de testosterona. O resultado apresentado foi suficiente para caracterizar como inautêntica a amostra codificada como 747, uma vez que essa apresentou um princípio ativo que não estava indicado no seu rótulo.

O segundo exemplo é apresentado na Figura 8. Trata-se de uma amostra na qual foi detectado tanto o princípio ativo descrito na embalagem, quanto outro não descrito. Nesse caso, além de ser detectada a metandrostenolona na composição da amostra de codificada como 791, foi possível também detectar a presença de citrato de sildenafil, fármaco utilizado para o tratamento de disfunção erétil, e que não faz parte da formulação original do produto estudado.

Nesse caso, após a inspeção visual dos perfis espectrais, foi possível visualizar rapidamente espectros compatíveis com o princípio ativo citrato de sildenafil, destacados em vermelho (Figura 8C). Entretanto, em um primeiro momento, a presença da metandrostenolona não foi identificada, uma vez que os espectros compatíveis com essa substância encontravam-se mais sobrepostos pelos sinais dos excipientes e do outro princípio ativo detectado.



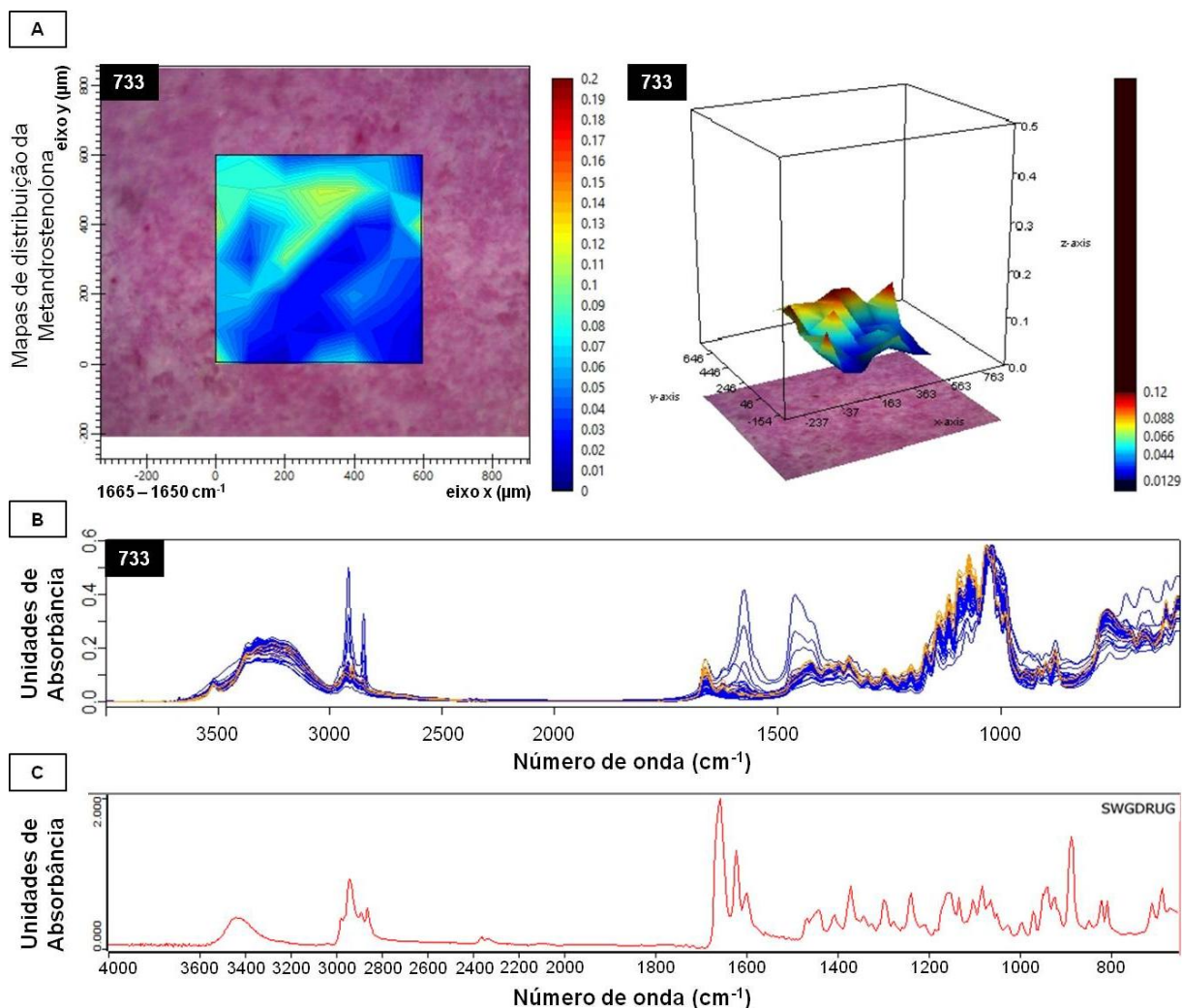


**Figura 8.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR de amostra rotulada como metandrostenolona e codificada como 791. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica do citrato de sildenafil, compreendida entre 1595 e 1575  $\text{cm}^{-1}$ . **C.** Espectros resultantes da análise da amostra 791 para todos os pontos de coleta, sendo em azul os espectros compatíveis com excipientes, em verde, os que apresentam bandas características da metandrostenolona, e em vermelho, os que apresentam bandas características do citrato de sildenafil. **D.** Espectro de referência da metandrostenolona (SWGDRUG 2019-02-08). **E.** Espectro de referência do citrato de sildenafil (SWGDRUG 2019-02-08).

Contudo, como parte do protocolo de análise, as bandas características correspondentes ao princípio descrito na embalagem e ao detectado nas análises foram integradas para a obtenção de seus mapas de distribuição. A análise visual das imagens químicas, então, permitiu visualizar provável presença da substância metandrostenolona, cuja distribuição está representada pelas regiões em amarelo (Figura 8A), indicando espectros com intensidade acima de zero na banda compreendida entre 1665-1650  $\text{cm}^{-1}$ . A distribuição do citrato de sildenafil também pôde ser representada em imagens químicas (Figura 8B), cujas regiões em vermelho indicam a aquisição de espectros com intensidade acima de zero na banda compreendida entre 1595-1575  $\text{cm}^{-1}$ .

A presença do citrato de sildenafil, independente da presença da metandrostenolona, foi suficiente para classificar a amostra codificada como 791 inequivocamente como inautêntica, por divergir da formulação indicada no rótulo do produto. Entretanto, é importante destacar que a utilização do método univariado de integração de bandas para a criação de imagens químicas mostrou-se útil para a detecção de princípios ativos, mesmo quando os espectros apresentam perfis de misturas. Isso porque se mostrou capaz de auxiliar o analista a visualizar regiões onde há provável presença das substâncias quando a simples inspeção visual dos espectros não foi suficiente, o que é especialmente importante quando o analista não estiver bem familiarizado com os espectros de referência. Nesse exemplo, a criação do mapa de distribuição da metandrostenolona foi imprescindível para a sua detecção, que foi confirmada posteriormente através da pesquisa de misturas nas espectrotecas disponibilizadas com o OPUS-IR.

Outro exemplo pode ser visualizado na Figura 9, que apresenta a amostra codificada como 733, rotulada como metandrostenolona. A análise visual dos resultados obtidos por  $\mu\text{ATR-FTIR}$  foi suficiente para detectar espectros (Figura 9B) com perfis semelhantes à metandrostenolona (Figura 9C). Da mesma forma, a integração da banda característica desse princípio ativo originou mapas de distribuição que indicam a sua presença na amostra, representada pelas regiões em verde no mapa de duas dimensões e em vermelho no mapa de três dimensões (Figura 9A).

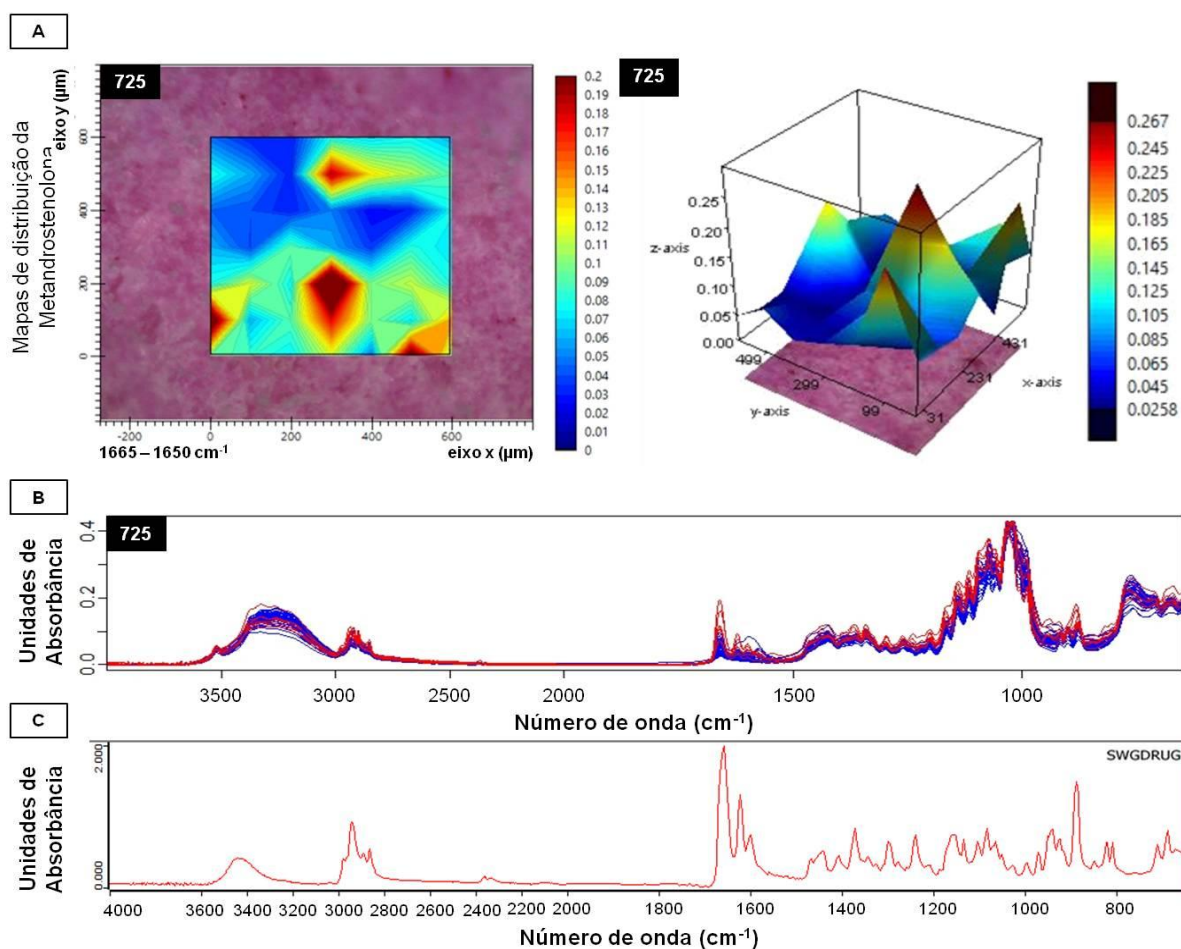


**Figura 9.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR de amostra de comprimido questionado, rotulada como metandrostenolona e codificada para esse estudo como 733. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra 733 para todos os pontos de coleta, sendo em azul os espectros compatíveis com excipientes, e em laranja, espectros que apresentam bandas características do princípio ativo metandrostenolona. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca SWGDRUG 2019-02-08).

Entretanto, esse resultado não pôde ser confirmado pela pesquisa simples ou de misturas nas espectrotecas disponíveis com o software OPUS-IR. Como mencionado anteriormente, essa não confirmação pode estar relacionada com a sobreposição de sinais de outros compostos nos espectros da amostra, impedindo que o algoritmo de pesquisa de misturas do OPUS-IR consiga resolver o espectro da

metandrostenolona para compará-lo com o de referência. A utilização do MCR-ALS pode ajudar a resolver esses casos e, por isso, essa discussão será retomada mais adiante, quando forem apresentados os resultados do método multivariado.

O quarto exemplo de mapa de distribuição univariado pode ser visualizado na Figura 10, que representa a amostra codificada como 725, em que o princípio ativo detectado pelas análises estava de acordo com aquele descrito na embalagem do produto (metandrostenolona).



**Figura 10.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR de amostra de comprimido questionado, rotulada como metandrostenolona e codificada para esse estudo como 725. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra 791 para todos os pontos de coleta, sendo em azul os espectros compatíveis com excipientes, e em vermelho, espectros que apresentam bandas características do princípio ativo metandrostenolona. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Spectroteca *SWGDRUG* 2019-02-08).

A inspeção visual dos perfis espectrais obtidos para a amostra 725 permitiu visualizar espectros compatíveis com a substância metandrostenolona, destacados em vermelho, dentre outros compatíveis com excipientes, em azul (Figura 10B), sendo a confirmação da análise visual realizada através de pesquisas nas espectrotescas.

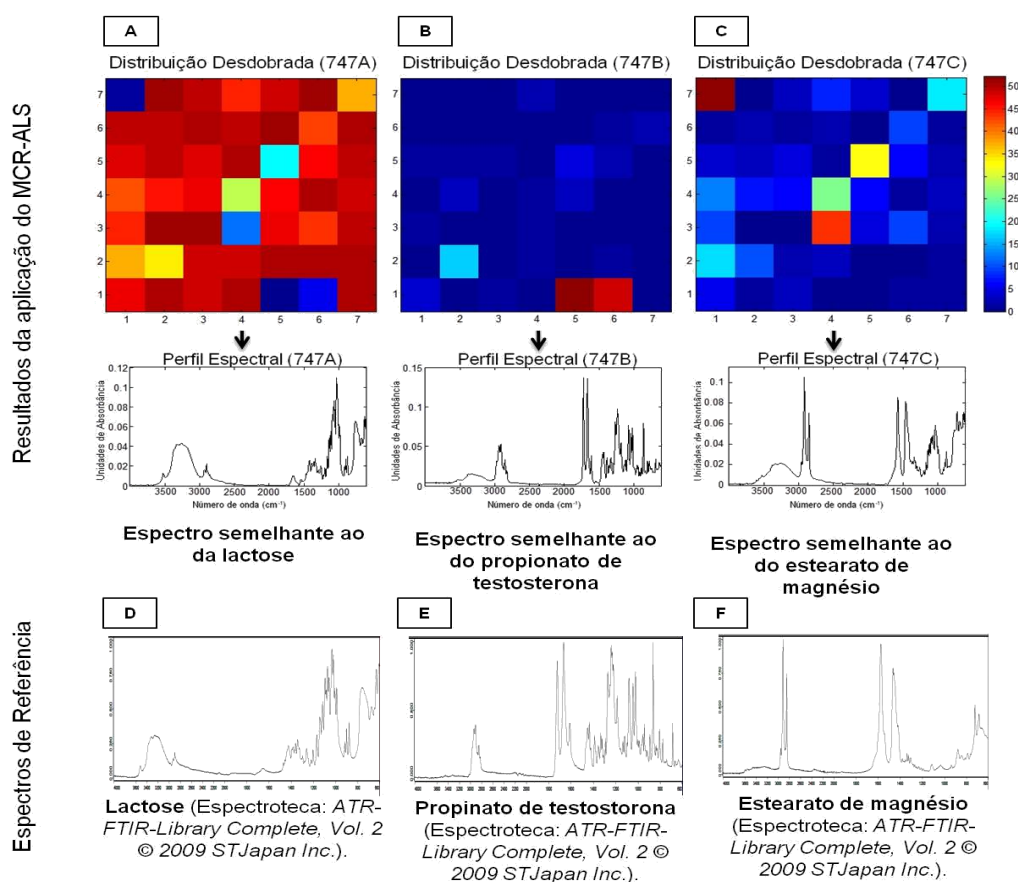
A integração da banda característica do princípio ativo metandrostenolona possibilitou a criação de sua imagem química, sendo a sua distribuição representada pelas regiões de cores quentes no mapa (Figura 10A), que indicam a aquisição de espectros com intensidade acima de zero para a banda compreendida entre 1665-1650  $\text{cm}^{-1}$ . Entretanto, apesar de haver a identificação do princípio ativo de acordo com o mencionado no rótulo, essa é apenas uma informação qualitativa e, por isso, isoladamente não é suficiente para classificar a amostra como autêntica. Uma alternativa para a avaliação de autenticidade de comprimidos com resultados semelhantes é a sua comparação com uma amostra de referência. Dessa forma, é possível verificar se o perfil de distribuição de princípios ativos de ambos é semelhante, e se os excipientes presentes em cada formulação são os mesmos. Além disso, outras metodologias, como a de GC/MS/FID, apresentada nessa dissertação, também podem ser aplicadas para corroborar com a autenticidade da amostra.

Para medicamentos que possuem seus excipientes relacionados em sua documentação, como é o caso de todos os produtos registrados no Brasil, esses compostos também podem ser utilizados para solucionar um caso de falsificação. Os produtos analisados nesse trabalho eram provenientes de indústrias estrangeiras e não apresentavam demais informações de composição em embalagens ou bulas, não sendo possível fazer esse tipo de correlação. Entretanto, a identificação de excipientes foi explorada da mesma forma, visando verificar a viabilidade da utilização dessa técnica para a identificação de excipientes em análises futuras. Os principais excipientes encontrados nas amostras analisadas foram: lactose, celulose microcristalina, estearato de magnésio e amido.

A análise dos espectros e criação de mapas de distribuição univariados para a elucidação da composição de excipientes de cada amostra demonstrou ser longa, demandar tempo, concentração e experiência. Esses fatores devem ser avaliados



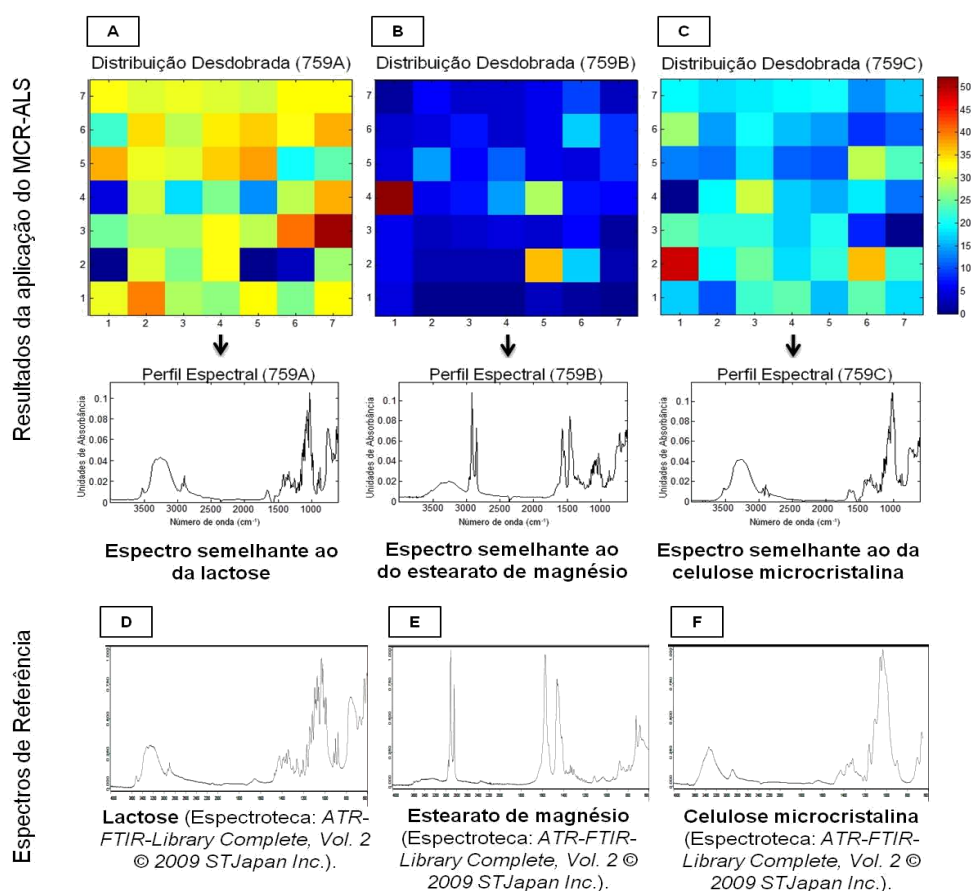
no momento de implementar essa técnica na rotina. Sabendo disso e da desvantagem do método univariado de sobreposição de bandas em diferentes compostos químicos, optou-se por realizar também a análise multivariada para criação dos mapas de distribuição de substâncias. Através da aplicação do MCR-ALS nos espectros coletados, foi possível obter não apenas a diferenciação de princípios ativos, mas também de excipientes presentes em cada amostra. A Figura 11 traz um exemplo da aplicação deste método, no qual foi possível identificar, na amostra codificada como 747, os excipientes lactose e estearato de magnésio, além do princípio ativo propionato de testosterona.



**Figura 11.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR e MCR-ALS da amostra codificada como 747, rotulada como oxandrolona. São apresentados os mapas de distribuição e os espectros obtidos para cada composto ( $R^2 \cong 99,63$ , LOF  $\cong 0,037$ ). **A.** Mapa de distribuição do espectro compatível com excipiente lactose. **B.** Mapa de distribuição do espectro compatível com princípio ativo propionato de testosterona. **C.** Mapa de distribuição do espectro compatível com excipiente estearato de magnésio. **D.** Espectro de referência da lactose (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.). **E.** Espectro de referência do propionato de testosterona (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.). **F.** Espectro de referência do estearato de magnésio (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.).

A avaliação da qualidade do modelo construído para a amostra codificada como 747 resultou em valores de  $R^2 \cong 99,63\%$ , indicando que a maior parte da informação original foi expressa pelo modelo, e  $LOF \cong 0,037\%$ , indicando que há pouca informação na matriz de resíduos.

Em outro exemplo, apresentado na Figura 12, embora não tenham sido identificados princípios ativos na amostra 759, rotulada como metandrostenolona, foi possível detectar a presença dos excipientes lactose, estearato de magnésio e celulose microcristalina, em modelo com valores de  $R^2 \cong 99,75\%$  e  $LOF \cong 0,039\%$ .



**Figura 12.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR e MCR-ALS da amostra codificada como 759, rotulada como metandrostenolona. São apresentados os mapas de distribuição e os espectros obtidos para cada composto ( $R^2 \cong 99,75\%$ ,  $LOF \cong 0,39\%$ ). **A.** Mapa de distribuição do espectro compatível com o excipiente lactose. **B.** Mapa de distribuição do espectro compatível com o excipiente estearato de magnésio. **C.** Mapa de distribuição do espectro compatível com o excipiente celulose microcristalina. **D.** Espectro de referência da lactose (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.). **E.** Espectro de referência do estearato de magnésio (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.). **F.** Espectro de referência da celulose microcristalina (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.).

Caso essa fosse uma amostra proveniente da indústria brasileira, poderíamos comparar as substâncias encontradas com as descritas no registro ou na bula do medicamento. Da mesma forma, uma amostra de referência, disponibilizada pela indústria responsável pela fabricação do produto, poderia ser comparada com a questionada, a fim de verificar a distribuição dos componentes no comprimido.

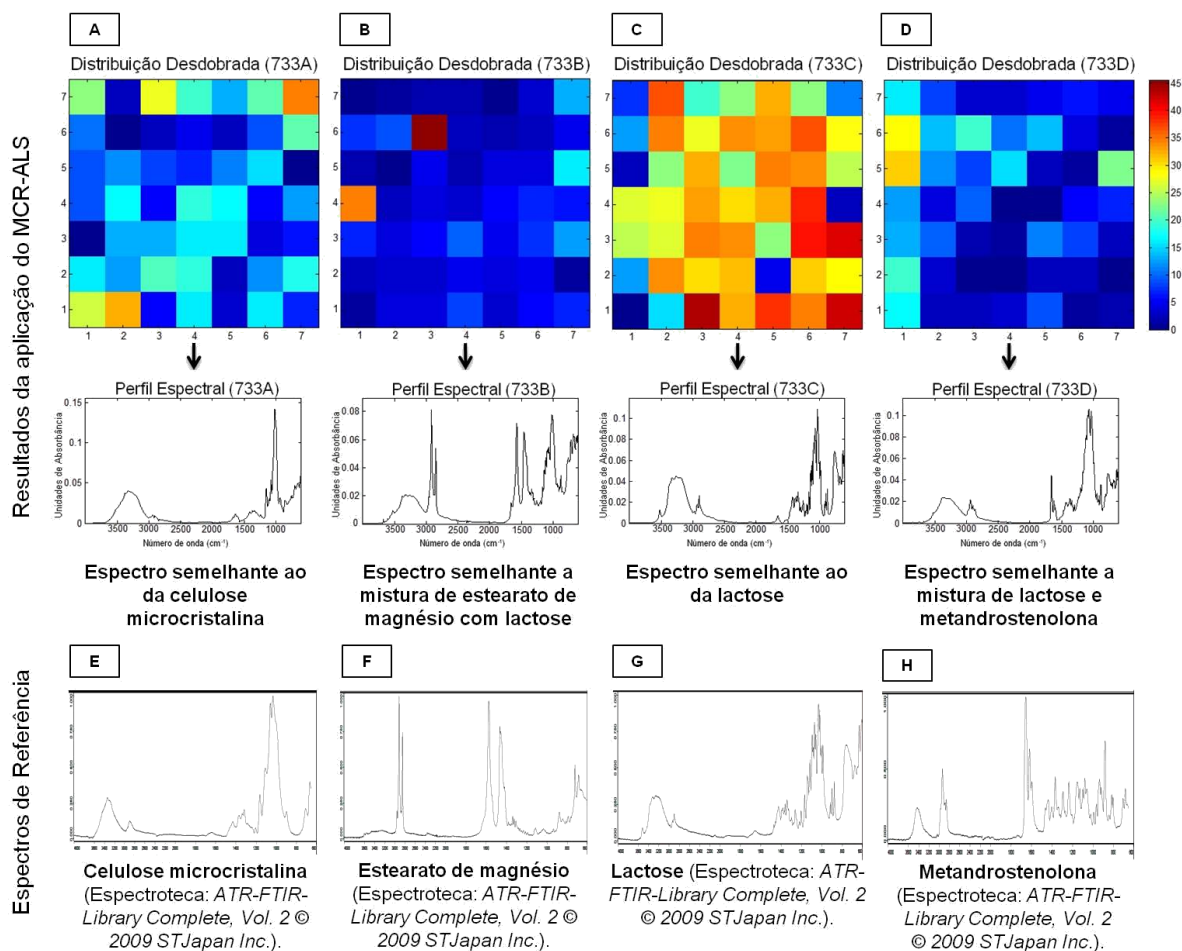
A partir da análise das Figuras 11 e 12, é possível verificar que as imagens geradas pelo MCR-ALS para cada substância da amostra são complementares, uma vez que os pontos da matriz com intensidade elevada em um dos mapas de distribuição apresentam baixa intensidade nos demais, e vice versa, evidenciando o poder de separação dos componentes das misturas presentes em cada ponto de coleta, pelo método aplicado.

Por fim, apresentamos um último exemplo de criação de imagens químicas pelo MCR-ALS, sendo os mapas de distribuição obtidos para os demais comprimidos em análise apresentados apenas no Apêndice B desse trabalho.

A Figura 13 representa a aplicação do método multivariado de criação de imagens químicas na amostra codificada como 733, já apresentada anteriormente. Trata-se da amostra rotulada como metandrostebolona cujos perfis espectrais resultantes da análise por  $\mu$ ATR-FTIR indicaram semelhança com espectros de referência da metandrostebolona, e cujo mapa de distribuição univariado indicou regiões em que essa substância estaria possivelmente presente na amostra, mas cujo resultado não pode ser confirmado pelo algoritmo de pesquisa de misturas do OPUS-IR.

A aplicação do MCR-ALS nos dados espectroscópicos dessa amostra permitiu obter, dentre outros perfis espectrais, um correspondente a mistura do perfil espectral do princípio ativo metandrostebolona com o do excipiente lactose, indicado na Figura 13D, em modelo com valores de  $R^2 \cong 99,83$ ,  $LOF \cong 0,024$ .





**Figura 13.** Resultados obtidos através da análise por  $\mu$ ATR-FTIR e MCR-ALS da amostra de comprimido questionado codificada como 733, rotulada como metandrostenolona. São apresentados os mapas de distribuição e os espectros obtidos para cada composto ( $R^2 \cong 99,83$ ,  $LOF \cong 0,024$ ). **A.** Mapa de distribuição do espectro compatível com o excipiente celulose microcristalina. **B.** Mapa de distribuição do espectro compatível com a mistura do excipiente estearato de magnésio com o excipiente lactose. **C.** Mapa de distribuição do espectro compatível com o excipiente Lactose. **D.** Mapa de distribuição do espectro compatível com a mistura do princípio ativo metandrostenolona com o excipiente lactose. **E.** Espectro de referência da substância celulose microcristalina (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.). **F.** Espectro de referência da substância estearato de magnésio (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.). **G.** Espectro de referência da substância lactose (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.). **H.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca: ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 - © 2009 STJapan Inc.).

Esse resultado corrobora com a hipótese levantada pela análise visual dos espectros e pela criação do mapa univariado de distribuição da banda característica

da metandrostenolona, de que o algoritmo do OPUS-IR não pôde realizar a separação das misturas, mas que a substância estava presente na amostra.

Entretanto, esse exemplo demonstra que, mesmo com a aplicação do MCR-ALS, nem sempre foi possível verificar uma completa separação dos componentes presentes nos comprimidos anabolizantes. Isso acontece porque, uma vez que não havia informações prévias acerca da composição química das amostras questionadas, os postos das matrizes, ou seja, o número de componentes presentes em cada sistema teve de ser calculado matematicamente pela aplicação de SVD. As estimativas de posto das matrizes basearam-se, portanto, unicamente nos espectros adquiridos por  $\mu$ ATR-FTIR para cada ponto de coleta, os quais muitas vezes apresentaram misturas complexas de sinais de diferentes substâncias. Essas misturas espectrais devem-se principalmente a falta de seletividade da superfície de amostragem, a qual pode ocorrer em amostras altamente homogêneas e/ou nos casos em que os componentes tenham partículas menores do que o tamanho do ponto de coleta (KWOK; TAYLOR, 2012). Em ambas as situações, o posto estimado por SVD pode ser diferente do número de espécies químicas presentes na amostra, resultando em uma matriz com deficiência de posto (MARÇO *et al.*, 2014). O modelo de MCR-ALS é construído, então, levando em consideração um número menor de substâncias, podendo resultar em resoluções que apresentam perfis espectrais de misturas (conforme observado na Figura 13), ou até mesmo na não detecção de algum componente minoritário, cujo perfil espectral estará presente apenas na matriz de resíduos do modelo.

Uma maneira de melhorar a resolução dos componentes é através da coleta de espectros das substâncias puras, e adição dessas informações ao modelo de MCR-ALS (SACRÉ *et al.*, 2014). Isso é possível através da análise de matrizes aumentadas, estruturas mais ricas em informação criadas a partir da junção entre duas ou mais matrizes de dados bilineares. Ao fundir a matriz de dados da amostra com uma matriz de espectros de padrões dos analitos, é possível reduzir ou eliminar a deficiência de posto, assim como chegar a estimativas iniciais de perfis espectrais por PURE mais condizentes com a realidade, uma vez que o modelo possuirá informações suficientes para separar os espectros puros das substâncias analisadas (MARÇO *et al.*, 2014). A aquisição de espectros de padrões e a análise de matrizes

aumentadas fazem parte das perspectivas de continuação desse trabalho por nosso grupo de pesquisa.

Ainda assim, com base nos resultados obtidos, entende-se que o método multivariado possa ser mais eficiente para a prática pericial e de controle de qualidade dos medicamentos. Por isso, sugere-se centrar esforços no desenvolvimento dele.

Por permitir a separação dos espectros de misturas em espectros puros, a ferramenta do MCR-ALS mostrou-se uma excelente para a verificação da qualidade do comprimido. Produtos registrados no Brasil devem passar por rigoroso controle de qualidade, pelo qual não passam os irregulares. Assim, se for verificada uma má distribuição dos componentes no comprimido, ou a presença de excipientes e/ou princípios ativos diferentes dos registrados, é constatada a baixa qualidade do medicamento e, portanto, sua irregularidade.

O método de integração de bandas mostrou-se mais lento e passível de erro humano do que o MCR-ALS. Além disso, por haver a possibilidade de sobreposições de bandas de absorção de diferentes componentes da amostra, a chance de criação de mapas de distribuição de componentes falsamente positivos é maior. Dessa forma, a imagem gerada por MCR-ALS pode representar melhor a distribuição dos componentes na amostra, uma vez que é criada a partir de toda a informação espectral de um composto, recuperado matematicamente, e não apenas de uma banda.

Quando se conhecem os compostos presentes na formulação de um comprimido, como ocorre na análise medicamentos autênticos, no controle de qualidade farmacêutico, é possível estudar os espectros de infravermelho de cada composto a fim de escolher uma banda característica que não se sobreponha às bandas dos demais componentes. Mesmo assim, nem sempre essas bandas são encontradas. Em um estudo de Chan, Hammond e Kazarian, (2003), por exemplo, não foi possível encontrar uma banda característica para o excipiente hipromelose que não se estivesse presente na cafeína e no amido. Nos casos forenses, por sua vez, nunca se sabe a composição exata do medicamento enviado para análise, tornando ainda mais complexo o estudo dos espectros das substâncias que compõe

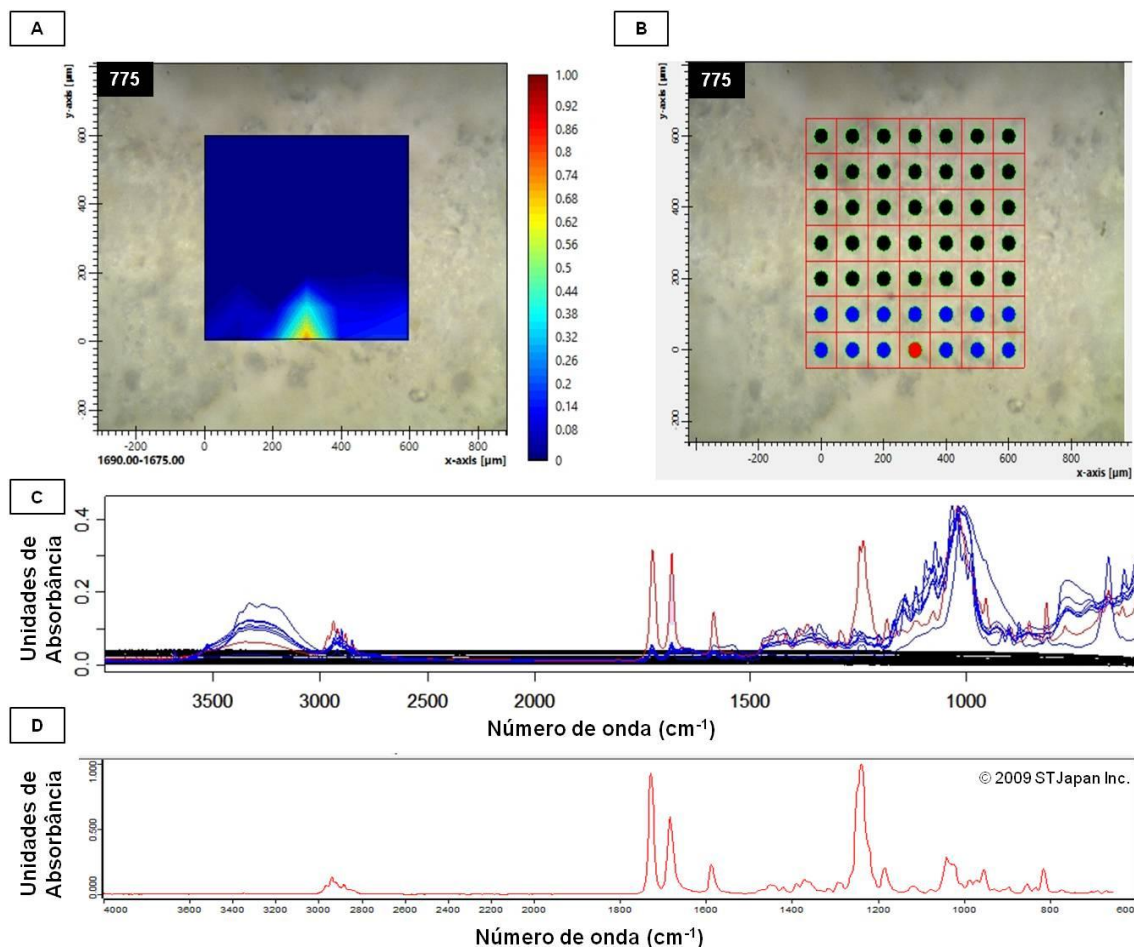
a sua formulação. Esse é mais um motivo que pode favorecer a eficácia do mapeamento realizado pelo MCR-ALS em contraposição do método de integração de banda única.

Esses achados corroboram o estudo realizado por Chan, Elkhider e Kazarian (2005), que apresentaram melhores resultados quando utilizaram o algoritmo de análise multivariada de Mínimos Quadrados Clássica (CLS), quando comparados com o método univariado de integração de bandas.

Destaca-se que o objetivo deste experimento foi demonstrar a viabilidade do uso da microespectroscopia de infravermelho para a análise de comprimidos questionados, através da obtenção de mapas de distribuição de componentes em sua superfície. Trata-se de um estudo preliminar, porém, os resultados obtidos são encorajadores e demonstram que mais esforços devem ser investidos no desenvolvimento dessa técnica promissora. Em próximos estudos, deve ser avaliada a viabilidade de aumentar o número de pontos a serem coletados na amostra, de forma a melhorar a resolução das imagens químicas obtidas e permitir uma avaliação mais detalhada da distribuição dos componentes nos comprimidos questionados. A determinação da quantidade de pontos a serem amostrados deve ser avaliada caso a caso, e deve levar em consideração o tempo e o tipo de equipamento disponível para a análise. Da mesma forma, como alguns compostos da amostra podem estar em baixas concentrações e não serem contemplados pela área amostral escolhida para análise, a realização de coletas em triplicata deve ser estudada, amostrando regiões diferentes de um mesmo comprimido para aumentar a representatividade da composição química da amostra. A análise de matrizes aumentadas com espectros de padrões analíticos também está dentre as perspectivas de continuação desse estudo, visando à criação de modelos mais próximos à composição química real das amostras.

Além disso, é importante mencionar que se percebeu, ao longo desse estudo, que as propriedades de dureza e friabilidade dos medicamentos questionados podem comprometer os resultados obtidos por dificultar a coleta dos espectros, nos casos em que os produtos não correspondem aos padrões de qualidade mínimos

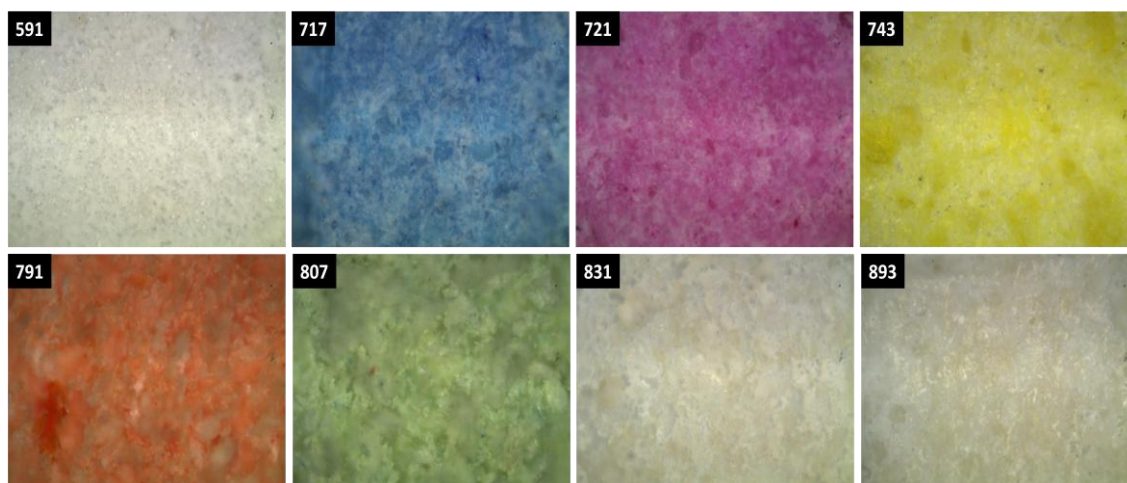
estabelecidos. Em um dos casos, por exemplo, o comprimido quebrou-se durante a análise devido à pressão aplicada pelo cristal de ATR. A Figura 14 traz o exemplo da amostra codificada como 775. Nesse caso, foi possível realizar a análise de apenas 14 dos 49 pontos de coleta, logo, o mapa de distribuição de componentes foi avaliado apenas para a região amostrada antes da quebra, uma vez que os demais espectros não eram representativos.



**Figura 14.** Resultado da análise de um comprimido questionado com baixa dureza. **A.** Mapa de distribuição 2D do princípio ativo acetato de clostebol, obtido através de integração da banda característica compreendida entre 1690 - 1675  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Imagem microscópica do comprimido em análise, com a marcação de todos os pontos da matriz a serem coletados, sendo destacado com a cor vermelha o que obteve espectro semelhante ao do acetato de clostebol, em azul todos os relacionados a excipientes e em preto todos em que não foi possível obter um espectro adequado porque que foram coletados após a quebra do comprimido em análise. **C.** Espectros obtidos para cada ponto de coleta da amostra, com o mesmo código de cores de B. **D.** Espectro de referência da substância acetato de clostebol (Espectroteca ATR-FTIR-Library COMPLETE, Vol. 2 – © 2009 STJapan Inc.).

Da mesma forma, o preparo da superfície para a análise apresentado nesse trabalho pode não ser o ideal para comprimidos com alta friabilidade, uma vez que algumas partículas podem ser removidas no momento de nivelamento da superfície com a lâmina de bisturi. Em ambas as situações, o problema pode ser minimizado ao aplicar um preparo de amostras diferenciado. Šimek, Grünwaldová e Kratochvíl (2014) desenvolveram um método de corte utilizando cera de parafina e micrótomo, que promete eliminar vários dos inconvenientes enfrentados com o uso do bisturi para o preparo da superfície. O envolvimento da amostra com parafina evita a quebra do comprimido durante o seu preparo e análise e, como a pressão aplicada durante o corte com o micrótomo é reduzida, uma melhor qualidade de nivelamento da superfície é obtido, evitando o deslocamento de partículas durante o processo. Ainda, soma-se a vantagem de poderem ser analisadas diferentes camadas do comprimido, dependendo das regiões estabelecidas para o corte. Entretanto, é preciso avaliar a viabilidade do uso dessa técnica na rotina pericial, uma vez que há a modificação da amostra em análise durante esse processo.

Por fim, é importante ressaltar que, através da metodologia utilizada no presente trabalho, além da obtenção da imagem química, obtém-se também a imagem microscópica da superfície em análise. Algumas das imagens microscópicas obtidas estão apresentadas na Figura 15.



**Figura 15.** Exemplos de imagens obtidas através do microscópio LUMOS (Bruker) para diferentes amostras em estudo.

Para casos em que produtos autênticos estejam disponíveis para comparação com os questionados, uma simples inspeção visual microscópica pode ser suficiente para verificar dissimilaridades entre as amostras e corroborar para a classificação do medicamento como irregular. Diferenças relacionadas ao aspecto geral do comprimido, coloração do revestimento ou da mistura compactada, assim como a falta de homogeneidade podem ser observadas nesses casos.

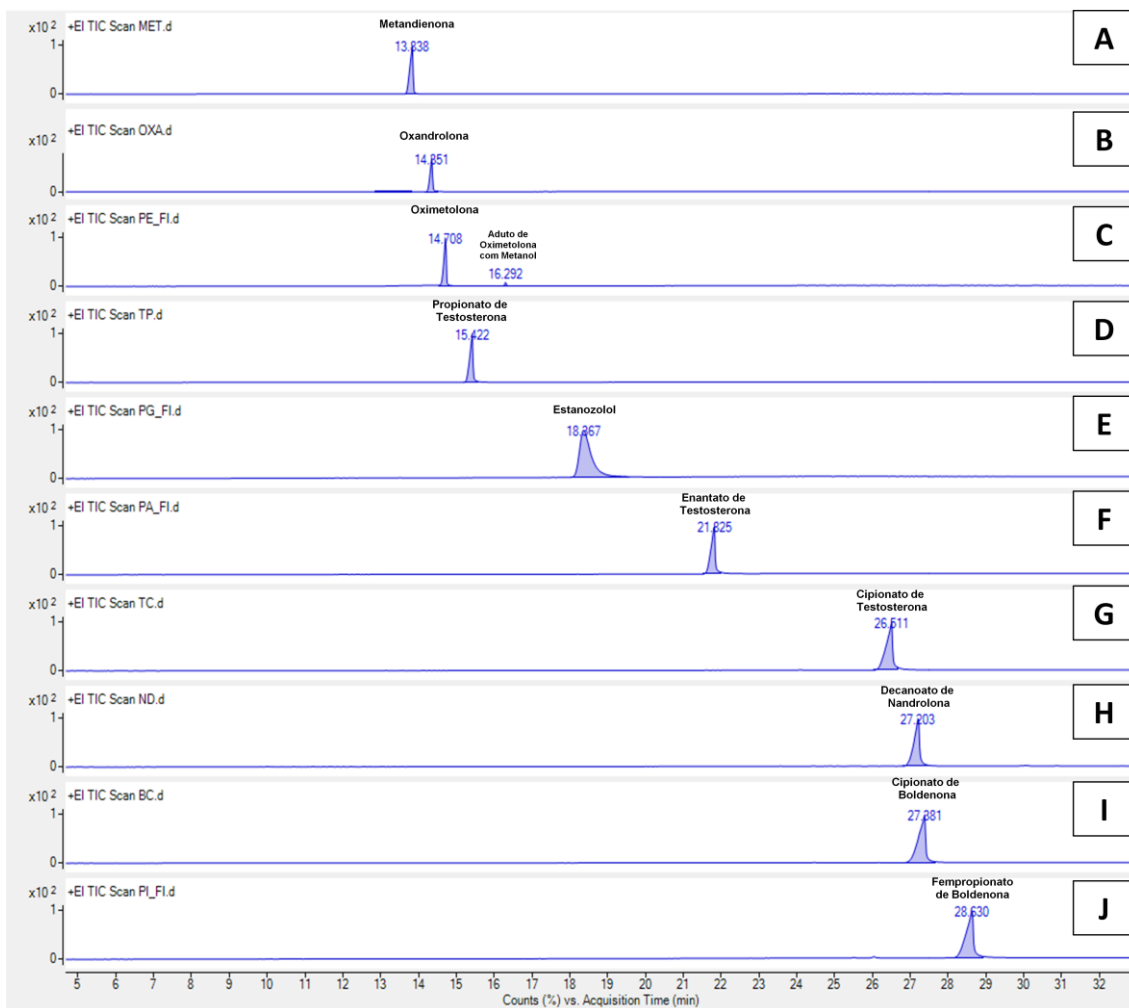
Considerando que as condições para o registro da imagem microscópica podem ser padronizadas para todas as amostras no software OPUS-IR, estudos de processamento de imagens também podem ser utilizados para fins de classificação entre comprimidos autênticos e inautênticos. Jung e colaboradores (2012), por exemplo, utilizaram abordagem semelhante para a interpretação de imagens de comprimidos genuínos e falsos de Viagra® e Cialis®, obtidas através de um Comparador Espectral de Vídeo (VSC).

## **5.2. Resultados preliminares e discussão das análises por GC/MS/FID**

Foi possível realizar a adaptação do método de GC/MS aplicado à análise de medicamentos questionados no SETEC/SR/PF/RS para a detecção simultânea de esteroides anabolizantes por espectrometria de massas e ionização de chamas.

A Figura 16 apresenta os cromatogramas (TIC) obtidos durante a análise das soluções de trabalho disponibilizadas pelo SETEC/SR/PF/RS. Essas análises serviram como avaliação preliminar da adaptação do método, antes da sua aplicação para a análise de amostras reais.

A partir dessa avaliação preliminar foi possível verificar que as substâncias cipionato de boldenona, cipionato de testosterona, decanoato de nandrolona, enantato de testosterona, estanozolol, fempropionato de nandrolona, metandrostenolona, oxandrolona, oximetolona e propionato de testosterona foram contempladas pelo método nas concentrações testadas (2500, 1000 e 100 ppm).



**Figura 16.** Resultados das análises das soluções de referência de esteroides anabolizantes, nos quais podem ser verificados os picos referentes à metandrostenolona **(A)**, oxandrolona **(B)**, oximetolona **(C)**, propionato de testosterona **(D)**, estanozolol **(E)**, enantato de testosterona **(F)**, cipionato de testosterona **(G)**, decanoato de nandrolona **(H)**, cipionato de boldenona **(I)** e fempropionato de boldenona **(J)**.

Em seguida, vinte amostras de apreensão (comprimidos e cápsulas) foram analisadas pelo método adaptado, de forma a verificar quais os princípios ativos estavam presentes em cada comprimido ou cápsula.

A identificação de substâncias a partir da análise dos resultados foi realizada através da comparação dos espectros de massas obtidos com os de referência disponíveis na NIST e com os obtidos através das soluções de trabalho disponibilizadas pelo SETEC/SR/PF/RS. O Quadro 4 traz um resumo dos resultados obtidos. Os fabricantes de medicamentos envolvidos nos exames foram codificados.



**Quadro 4.** Resultados das análises das amostras questionados por GC/MS/FID.

Código	Fabricante	Forma Farmacêutica	Dose descrita na embalagem (mg)	Princípios ativos descritos na embalagem	Princípios ativos identificados por GC/MS/FID
524	M	Comprimido	50	Oxandrolona	Oxandrolona
525	M	Comprimido	50	Oxandrolona	Oxandrolona
553	M	Comprimido	25	Mesterolona	Mesterolona
554	M	Comprimido	25	Mesterolona	Mesterolona
557	M	Comprimido	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
558	M	Comprimido	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
561	M	Comprimido	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
562	M	Comprimido	10	Metandrostenolona	Metandrostenolona
589	U	Comprimido	5	Metandrostenolona	Estanozolol
590	U	Comprimido	5	Metandrostenolona	Estanozolol
601	G	Cápsula	10	Oxandrolona	Nenhum
602	G	Cápsula	10	Oxandrolona	Nenhum
605	G	Cápsula	10	Oxandrolona	Nenhum
606	G	Cápsula	10	Oxandrolona	Nenhum
609	G	Cápsula	10	Oxandrolona	Nenhum
610	G	Cápsula	10	Oxandrolona	Nenhum
633	J	Cápsula	10	Oxandrolona	Nenhum
634	J	Cápsula	10	Oxandrolona	Nenhum
745	R	Comprimido	5	Oxandrolona	Propionato de Testosterona
746	R	Comprimido	5	Oxandrolona	Propionato de Testosterona

**Legenda:** Em verde, amostras cujo princípio ativo detectado correspondeu ao descrito nas embalagens. Em amarelo, amostras cuja análise por GC/MS/FID não foi capaz de detectar princípios ativos. Em vermelho, amostras cujos princípios ativos detectados não corresponderam ao descrito nas embalagens.

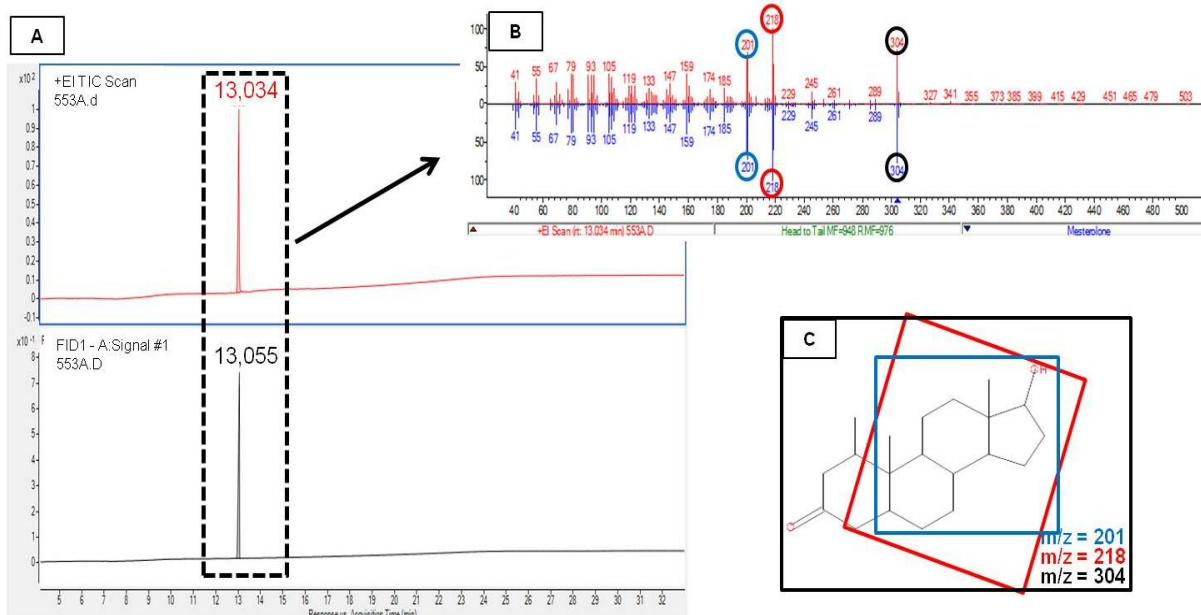
A partir dos resultados obtidos, especificamente da detecção qualitativa de esteroides anabolizantes, foi possível verificar que doze das vinte amostras analisadas eram falsificadas. Quatro delas (codificadas como 589, 590, 745 e 746) apresentaram princípios ativos diferentes daqueles indicados em suas embalagens, e oito (codificadas como 601, 602, 605, 606, 609, 610, 633 e 634) não apresentaram pico cromatográfico referente a esteroides anabolizantes, podendo estes estar ausentes ou abaixo dos limites de detecção do método. Tanto a ausência de princípios ativos, quanto à presença de substâncias ou de concentrações diferentes das registradas e, conseqüentemente, descritas nas embalagens e bulas dos

medicamentos, configuram irregularidades, e podem causar diversos riscos à saúde do paciente que vir a utilizar esse produto.

Para as demais amostras (codificadas como 524, 525, 553, 554, 557, 558, 561 e 562), verificou-se que os princípios ativos detectados pelas análises cromatográficas estavam de acordo com os mencionados nos rótulos dos produtos questionados. Entretanto, apenas com essa informação, não é possível classificá-las como autênticas ou inautênticas, uma vez que esse é um resultado apenas qualitativo sobre a composição da amostra, exigindo a realização de outras análises para confirmar a sua autenticidade.

Esse é um dos motivos que tornam a análise simultânea por GC/MS/FID interessante para as análises forenses. Ao utilizar a espectrometria de massas como uma das formas de detecção do método, é possível confirmar a presença das substâncias através da análise do seu espectro de massas, o que em muitos casos já é suficiente para verificar a inautenticidade de uma amostra. Por outro lado, a vantagem de utilizar a detecção simultânea por ionização de chamas é a possibilidade de agregar informações quantitativas mais confiáveis para a análise, obtidas em uma única separação cromatográfica. Nesse estudo, foi realizada apenas a estimativa de proporção entre amostras de mesmo princípio ativo, mas em etapas futuras de trabalho, pretende-se agregar ferramentas de análise quantitativa a essa metodologia, tornando possível a realização da quantificação exata das substâncias identificadas.

Para demonstrar a aplicabilidade da detecção simultânea por massas e ionização de chamas na análise forense de medicamentos anabolizantes questionados, os resultados obtidos para as amostras codificadas como 553 e 554, rotuladas como de mesmo fabricante e lote, são apresentados como exemplo. A Figura 17 apresenta os cromatogramas TIC e FID de uma das triplicatas da amostra codificada como 553, na qual foi detectada a presença do princípio ativo mesterolona, de acordo com o rótulo do produto questionado. Perfil cromatográfico semelhante foi verificado para as demais análises da triplicata, assim como da amostra codificada como 554.



**Figura 17.** Resultados obtidos através da análise por GC/MS/FID de amostra de comprimido questionado, rotulada como mesterolona e codificada para esse estudo como 553. **A.** Cromatogramas TIC e FID apresentando pico cromatográfico correspondente à substância mesterolona nos tempos de retenção de 13,034 (TIC) e 13,055 (FID). **B.** Espectro de massas obtido para o pico em TR = 13,034 min no TIC da amostra 553A (em vermelho) e o espectro de massas de referência na NIST para a substância mesterolona (em azul). **C.** Estrutura molecular e principais fragmentos encontrados no espectro de massas da substância mesterolona.

Após a identificação do princípio ativo pela espectrometria de massas, o pico cromatográfico relativo à mesterolona foi atribuído e integrado no cromatograma FID. As áreas obtidas experimentalmente e corrigidas pela massa das alíquotas, assim como a média e desvio padrão das triplicatas das amostras codificadas como 553 e 554 podem ser visualizadas no Quadro 5.

A comparação da proporção entre as áreas médias foi então realizada, o que permitiu constatar grande discrepância na proporção do princípio ativo mesterolona entre as amostras analisadas, embora essas estivessem identificadas como de mesmo fabricante e lote. A partir desses resultados, verificou-se que a amostra codificada como 554 apresentou cerca de 30% da área do pico cromatográfico relativo à mesterolona, quando comparada com a amostra 553. Mesmo essa estimativa sendo apenas uma análise preliminar, a variação expressiva no teor de

princípio ativo encontrada nas amostras pode indicar a ausência de controle qualidade na produção desses medicamentos e sugerir sua inautenticidade.

**Quadro 5.** Resultados obtidos pela integração do pico cromatográfico referente ao princípio ativo mesterolona nos cromatograma FID das amostras codificadas como 553 e 554.

Analito	Massa ideal (mg)	Massa medida (mg)	Código	Área FID experimental	Área corrigida	Média da triplicata	Desvio Padrão da triplicata
Mesterolona	23,36	23,36	553 A	12595708,7	12595708,7	12960778,3	412588,0 (3,18%)
	23,36	23,36	553 B	12878224,4	12878224,4		
	23,36	23,36	553 C	13408401,7	13408401,7		
Mesterolona	22,14	22,12	554 A	4004867,3	4001249,5	3969853,5	62081,6 (1,56%)
	22,14	22,16	554 B	3894826,4	3898344,7		
	22,14	22,14	554 C	4009966,3	4009966,3		

A diferença de concentração de princípios ativos em um produto irregular é um problema extremamente relevante para saúde pública, uma vez que o paciente que utilizará o medicamento em questão poderá receber doses diferentes a cada comprimido. Esse problema é ainda mais crítico para fármacos que apresentam janelas terapêuticas pequenas, quando mínimas variações na concentração de princípio ativo podem levar tanto à ineficiência do tratamento quanto à morte por intoxicação aguda.

Isso indica que a simples identificação qualitativa de princípios ativos descritos no rótulo de medicamentos questionados, incluindo esteroides anabolizantes, não é suficiente para concluir acerca de sua autenticidade, indicando a necessidade de utilização de técnicas quantitativas complementarmente às qualitativas já consolidadas na rotina pericial. A utilização de métodos de análise simultânea por GC/MS/FID pode ser uma alternativa para esses casos.

É importante ressaltar que os experimentos realizados nesse estudo compõem uma avaliação preliminar da GC/MS/FID, e não resolvem todas as questões técnicas relacionadas a essa combinação, como a utilização do FID para a

quantificação exata das substâncias identificadas. Por isso, sugere-se que estudos mais aprofundados sejam realizados para explorar as demais possibilidades associadas a essa técnica. Entretanto, o objetivo principal do trabalho foi alcançado: apresentar a possibilidade da detecção simultânea por FID e MS aplicada à análise de esteroides anabolizantes, a partir da adaptação de um método de GC/MS já aplicado na rotina da perícia federal no estado do Rio Grande do Sul.

### **5.3. Discussão geral**

Nesse trabalho, foram apresentadas e aplicadas duas ferramentas, com princípios analíticos diferentes, para a análise de medicamentos esteroides anabolizantes questionados: a  $\mu$ ATR-FTIR e a GC/MS/FID. Apesar do foco em apenas um grupo de medicamentos, porém, ambas as técnicas poderão ser aplicadas a outras classes farmacológicas e toxicológicas de interesse. Dessa forma, a importância desse trabalho reside no auxílio ao enfrentamento geral do problema de falsificação de medicamentos, e não apenas de esteroides anabolizantes, especialmente se as metodologias apresentadas forem aplicadas em conjunto com outras técnicas analíticas e quimiométricas complementares.

É sabido que o uso combinado de métodos analíticos é muito mais apropriado para a investigação forense, uma vez que essa exige a obtenção do máximo possível de informações relevantes acerca das amostras suspeitas, além da confirmação dos resultados obtidos por mais de uma técnica. Por isso, sugere-se que as metodologias aqui apresentadas não sejam utilizadas de maneira isolada ou vistas como substitutas das técnicas pré-existentes na rotina pericial, mas sim sejam utilizadas como complementares entre si e em relação às demais, de maneira a elevar a convicção do perito na conclusão do laudo pericial.

Nosso grupo de pesquisa vem explorando diversas técnicas para a análise forense de medicamentos, de modo a ampliar as possíveis abordagens desse tema na perícia criminal brasileira. Alguns estudos publicados incluem a obtenção de perfis tecnológicos de comprimidos através de características pós-compressão, a determinação de princípios ativos por Cromatografia Líquida de Ultraeficiência com Detecção por Arranjo de Diodos (UPLC-DAD), e a obtenção de perfis químicos por

Espectrometria de Massas com Ionização por *Electrospray* (ESI-MS), Espectrometria de Fluorescência de Raios-x (XRF), Cromatografia Líquida de Ultraeficiência com detecção de Arranjo de Diodos e de Espectrometria de Massas com Ionização por *Electrospray* (UPLC-DAD-ESI-MS), Espectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier no Modo Reflexão Total Atenuada tradicional (ATR-FTIR) e Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC), associadas a diferentes ferramentas multivariadas de análise de dados, que buscam a avaliação de autenticidade e a verificação de similaridades entre amostras de diferentes apreensões (ANZANELLO *et al.*, 2017, 2014a, 2014c, 2013; KAHMANN *et al.*, 2018b; ORTIZ; ANTUNES; LINDEN, 2010; ORTIZ *et al.*, 2013a, 2013b, 2012a, 2012b, 2011; SANTOS *et al.*, 2019). Todas são importantes abordagens a serem consideradas no estabelecimento de uma rotina de análise forense de medicamentos.

O presente trabalho representou continuidade dessa linha de pesquisa, tendo como contribuição a exploração e aplicação de mais duas técnicas analíticas, complementares às já desenvolvidas, para a análise de medicamentos questionados. A utilização da  $\mu$ ATR-FTIR acrescentou a possibilidade de utilização de dados espaciais e químicos simultaneamente, permitindo avaliar a distribuição dos compostos e a homogeneidade de comprimidos questionados. Além disso, a sua associação com ferramentas quimiométricas, como MCR-ALS, demonstrou a possibilidade de detecção de diversos analitos em uma mesma análise, através de separação matemática de misturas de sinais, mesmo quando não existem informações prévias da composição das amostras. Essa vantagem, associada com o fato de ser uma técnica não destrutiva, que permite a preservação da prova pericial, torna a  $\mu$ ATR-FTIR uma ferramenta analítica muito promissora para análises forenses.

Da mesma forma, a adaptação de um método cromatográfico para detecção simultânea por dois detectores, através da GC/MS/FID, permitiu visualizar o potencial da aplicação dessas técnicas combinadas para a análise de medicamentos anabolizantes, mesmo que preliminarmente. A análise de medicamentos por GC/MS/FID possibilita a obtenção de informações qualitativas indispensáveis para a identificação de analitos em amostras desconhecidas, através da espectrometria de massas, e ao mesmo tempo a obtenção de dados quantitativos mais confiáveis

acerca dos analitos detectados, através da ionização de chamas, associando métodos com princípios analíticos diferentes em análise simultânea, aumentando a assertiva da análise, um dos princípios forenses. Nesse estudo, foram realizadas apenas estimativas preliminares de proporção de princípios ativos entre amostras de mesmo fabricante e lote, porém, demonstraram que a técnica combinada é promissora, fazendo prospecção de uma metodologia ainda não explorada no Brasil. Portanto, estudos futuros devem ser realizados seguindo essa linha, principalmente para explorar o potencial quantitativo do FID em análises mais robustas.

Tratando-se de um estudo preliminar sobre duas abordagens analíticas ainda pouco exploradas, é natural que sejam traçadas diversas perspectivas de continuação desse trabalho por nosso grupo de pesquisa. A melhoria das técnicas apresentadas e a aplicação em conjunto dessas com as demais metodologias já desenvolvidas para a análise de medicamentos são algumas das perspectivas já traçadas, as quais são apresentadas com mais detalhes em seção específica, ao final do trabalho. Entretanto, é importante ressaltar a relevância desse trabalho para melhoria das atividades pericial e policial. A aplicação das técnicas exploradas poderá contribuir para uma melhor compreensão do mercado ilícito de medicamentos, e no embasamento de parte do planejamento das investigações policiais, auxiliando na identificação de redes criminosas nacionais e internacionais.

Como consequência, destaca-se também a relevância do estudo para a saúde pública, uma vez que, como mencionado anteriormente, essas ferramentas podem contribuir ao combate da falsificação de medicamentos das mais diversas classes farmacológicas, além dos esteroides anabolizantes. Como exemplo de outros medicamentos de relevância para a saúde pública, podemos citar os utilizados no tratamento do câncer de mama metastático, como tamoxifeno e anastrozol (SAAD *et al.*, 2002). Se um medicamento falsificado for utilizado pela paciente, pode haver o aumento de sua taxa hormonal e, portanto, o aumento das chances de recidiva do câncer. Citando mais um exemplo, consequências gravíssimas também podem ocorrer com o uso de medicamentos antidepressivos falsificados, uma vez que a ineficiência do tratamento pode aumentar as chances do paciente deprimido cometer suicídio. O desenvolvimento de técnicas analíticas robustas para a análise de medicamentos irregulares, associadas a ferramentas

quimiométricas, permite a utilização dos dados periciais para inteligência forense, melhorando também a qualidade do trabalho policial investigativo, o que reflete no combate e desmantelamento de grandes organizações criminosas associadas aos crimes farmacêuticos, trazendo retorno para a saúde pública e para sociedade como um todo.



## **6. CONCLUSÕES**

---



Foram exploradas duas ferramentas analíticas para a análise de medicamentos esteroides anabolizantes, tendo em vista sua aplicação em atividades periciais e de inteligência forense.

A Microespectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier no Modo Reflexão Total Atenuada ( $\mu$ ATR-FTIR) foi aplicada de modo inédito para a análise de comprimidos questionados rotulados como esteroides anabolizantes. A partir dos experimentos preliminares realizados, verificou-se que a  $\mu$ ATR-FTIR pode ser utilizada como técnica de triagem para a detecção de princípios ativos e excipientes de uma formulação e para a análise de autenticidade de medicamentos anabolizantes.

A simples identificação de substâncias diferentes daquelas descritas nos rótulos e no registro dos medicamentos analisados permite a sua classificação como inautênticos. No presente estudo, foi possível determinar de forma inequívoca que cinco dos trinta e dois comprimidos submetidos à análise eram inautênticos apenas através da metodologia desenvolvida para  $\mu$ ATR-FTIR.

Dois métodos de análise de dados diferentes foram empregados como auxiliares na interpretação dos dados espectroscópicos obtidos. A comparação foi realizada entre o método univariado de integração de bandas e o método multivariado de resolução de curvas (MCR-ALS) e ambos mostraram-se eficazes para a realização do mapeamento químico dos comprimidos. A partir dos resultados obtidos, entende-se que o método de MCR-ALS possa ser mais promissor do que o univariado, visto que apresentou vantagens extras, como a possibilidade de distinguir diferentes componentes quando as bandas de absorção não são bem resolvidas. Isso é extremamente útil para a análise de formulações desconhecidas e que contenham muitos ingredientes, como ocorre nas análises forenses.

Além disso, foi possível realizar a adaptação de um método de GC/MS, já utilizado pelo SETEC/SR/PF/RS para a verificação da autenticidade de medicamentos anabolizantes, para um método de GC/MS/FID empregando um sistema de divisão de fluxo para os diferentes detectores. A partir de um preparo de amostra simples, foi possível identificar a presença de esteroides anabolizantes em

comprimidos e cápsulas de questionados, assim como realizar a estimativa de proporção desses compostos entre diferentes amostras.

A aplicação da metodologia de GC/MS/FID para amostras questionadas reais permitiu classificar doze das vinte amostras analisadas como inautênticas, uma vez que possuíam princípios ativos diferentes dos descritos no rótulo ou não possuíam princípio ativo algum. A estimativa de proporção preliminar realizada nesse trabalho possibilitou inferir que mesmo amostras que apresentam o princípio ativo relacionado no rótulo possam ser irregulares, uma vez que não apresentam doses unitárias reproduzíveis dessa substância.

Por fim, conclui-se que esse foi um estudo preliminar que apresentou duas técnicas inovadoras e promissoras para a análise, não só de medicamentos anabolizantes suspeitos de irregularidade, mas de outras demandas periciais. Contudo, visando à melhoria de ambas as técnicas, vislumbra-se a continuidade do estudo por nosso grupo de pesquisa através da realização de novos experimentos, cujas ideias iniciais são apresentadas a seguir.

## **7. PERSPECTIVAS**

---



Vislumbra-se, como sequência desse trabalho pelo grupo de pesquisa, o aperfeiçoamento de ambas as metodologias apresentadas e a sua aplicação para a análise de outras classes farmacológicas de interesse forense.

Para a técnica de  $\mu$ ATR-FTIR, pretende-se realizar novos experimentos, com coleta de maior número de espectros por amostra, de forma a determinar um número ótimo de pontos necessários para melhor representatividade de distribuição espacial. A exploração do uso de matrizes aumentadas no MCR-ALS para melhor resolução de sinais, utilizando espectros de padrões de referência e matrizes de várias amostras, assim como a verificação da aplicabilidade de métodos multivariados de quantificação das substâncias identificadas, pelo MCR-ALS ou por outras ferramentas quimiométricas, também são perspectivas de melhorias da metodologia apresentada.

Quanto à GC/MS/FID, em novos estudos, pretende-se explorar a utilização do FID para quantificação, aplicada a análise forense de medicamentos anabolizantes. O emprego de ferramentas que permitam determinar a concentração exata e precisa de princípios ativos, assim como a aplicação de ferramentas quimiométricas para quantificações relativas e para reconhecimento de padrões poderão ser explorados.

Por fim, vislumbra-se a expansão das análises para um maior número de amostras de medicamentos questionados, de variadas classes farmacológicas presentes no comércio irregular, permitindo a criação de um banco de dados com todos os resultados obtidos, incluindo estudos prévios do nosso grupo de pesquisa (ANZANELLO *et al.*, 2017, 2014a, 2014b, 2014c, 2013; JUNG *et al.*, 2012; KAHMANN *et al.*, 2018b; MARIOTTI *et al.*, 2013; ORTIZ; ANTUNES; LINDEN, 2010; ORTIZ, 2013; ORTIZ *et al.*, 2013a, 2013b, 2012a, 2012b, 2011; SANTOS *et al.*, 2019). A partir desse banco de dados, pretende-se aplicar métodos de reconhecimento de padrões a fim de verificar a presença de similaridades entre amostras apreendidas, no intuito de colaborar com o desenvolvimento de um sistema integrado de rastreabilidade de medicamentos irregulares, para que possa ser posteriormente implementado pela inteligência da Polícia Federal.





## REFERÊNCIAS

ABRAHIN, Odilon Salim Costa; DE SOUSA, Evitom Corrêa. Esteroides anabolizantes androgênicos e seus efeitos colaterais: Uma revisão crítico-científica. **Revista da Educação Física/UEM**, Maringá, v. 24, n.4, p. 669-679, 2013.

ABRAHIN, Odilon Salim Costa; DE SOUSA, Evitom Corrêa; SANTOS, Azenildo Moura. Prevalence of the use of anabolic-androgenic steroids in Brazil: A systematic review. **Substance Use & Misuse**, v. 49, n. 9, p. 1156-62, 2014.

AGILENT Technologies, Inc. **Agilent G3180B Two-Way Splitter Kit With Makeup Gas**: Installation and Operation Guide. EUA: April 2006, 50 p.

ALLEN JR., L.V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 8ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

AMES, Joseane; SOUZA, Daniele Zago. Falsificação de medicamentos no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 46, n. 1, p. 154–159, 2012.

ANTOINE, Kimone M. *et al.* Chemical differences are observed in children's versus adults' latent fingerprints as a function of time. **Journal of Forensic Sciences**, v. 55, n. 2, p. 513–518, 2010.

ANZANELLO, Michel J. *et al.* A multivariate-based wavenumber selection method for classifying medicines into authentic or counterfeit classes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 83, p. 209–214, 2013.

ANZANELLO, Michel J. *et al.* PLS-DA wavenumber selection for the categorization of medicine samples based on multiple criteria. **Forensic Science International**, v. 242, p. 111–116, 2014 a.

ANZANELLO, Michel J. *et al.* A framework for selecting analytical techniques in profiling authentic and counterfeit Viagra and Cialis. **Forensic Science International**, v. 235, p. 1–7, 2014 b.

ANZANELLO, Michel J. *et al.* Selecting relevant Fourier transform infrared spectroscopy wavenumbers for clustering authentic and counterfeit drug samples. **Science and Justice**, v. 54, n. 5, p. 363–368, 2014 c.

ANZANELLO, Michel J. *et al.* A genetic algorithm-based framework for wavelength selection on sample categorization. **Drug Testing and Analysis**, v. 9, n. 8, p. 1172–1181, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria n. 344, de 12 de maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1998a.

BRASIL. Decreto-lei nº 2.848, de 07 de dezembro de 1940. Código Penal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1940.

BRASIL. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o Controle Sanitário do Comércio de Drogas, Medicamentos, Insumos Farmacêuticos e Correlatos, e dá outras Providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1973.

BRASIL. Lei nº 6.360, de 23 de Setembro de 1976. Dispõe sobre a Vigilância Sanitária a que ficam sujeitos os Medicamentos, as Drogas, os Insumos Farmacêuticos e Correlatos, Cosméticos, Saneantes e Outros Produtos, e dá outras Providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1976.

BRASIL. Lei nº 6437, de 20 de agosto de 1977. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1977.

BRASIL. Lei Nº 8.072, de 25 de Julho de 1990. Dispõe sobre os crimes hediondos, nos termos do art. 5º, inciso XLIII, da Constituição Federal, e determina outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1990.

BRASIL. Lei nº 9.677 de 02 de julho de 1998. Altera dispositivos do Capítulo III do Título VIII do Código Penal, incluindo na classificação dos delitos considerados hediondos crimes contra a saúde pública, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1998b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17, de 16 de Abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2010.

CARVALHO, Carina Maria Bello de *et al.* Application of Multivariate Statistics (PCA and HCA) on ballpoint pen ink Infrared spectra for dating of forensic relevant documents. **Journal of The American Society of Questioned Document Examiners**, v. 22, p. 15–35, 2019.

CECCHETTO, Fátima; DE MORAES, Danielle Ribeiro; DE FARIAS, Patrícia Silveira. Distintos enfoques sobre esteroides anabolizantes: Riscos à saúde e hipermasculinidade. **Interface**, Botucatu, v.16, n. 41, p. 369-382, 2012.

CHALMERS, John M.; EDWARDS, Howell G. M.; HARGREAVES, Michael D. **Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science**, John Wiley & Sons, Ltd [S. l.], 2012. 646 p.

CHAN, K. L. A.; ELKHIDER, N.; KAZARIAN, S. G. Spectroscopic imaging of compacted pharmaceutical tablets. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 83, n. 11 A, p. 1303–1310, 2005.

CHAN, K. L. A.; KAZARIAN, S. G. New opportunities in micro- and macro-attenuated total reflection infrared spectroscopic imaging: Spatial resolution and sampling versatility. **Applied Spectroscopy**, v. 57, n. 4, p. 381–389, 2003.

CHAN, K. L. Andre.; HAMMOND, Stephen V.; KAZARIAN, Sergei G. Applications of attenuated total reflection infrared spectroscopic imaging to pharmaceutical formulations. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 9, p. 2140–2146, 2003.

CHAN, K. L. Andre.; KAZARIAN, Sergei G. Detection of trace materials with Fourier transform infrared spectroscopy using a multi-channel detector. **Analyst**, v. 131, n. 1, p. 126–131, 2006.

COOPMAN, Vera; CORDONNIER, Jan. Counterfeit drugs and pharmaceutical preparations seized from the black market among bodybuilders. **Annales de Toxicologie Analytique**, v. 24, n. 2, p. 73-80, 2012.

CUNHA, Tatiana Sousa *et al.* Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 165-179, 2004.

DA-COL, José Augusto; DANTAS, Willian Francisco Cordeiro; POPPI, Ronei Jesus. Experimento didático de Quimiometria para o Mapeamento de Pellets Farmacêuticos utilizando Espectroscopia de Imagem na Região do Infravermelho Próximo e Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes: um Tutorial, Parte IV. **Química Nova**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 345–354, 2018.

DAVIS, Brynmor J.; SCOTT CARNEY, P.; BHARGAVA, Rohit. Theory of infrared microspectroscopy for intact fibers. **Analytical Chemistry**, v. 83, n. 2, p. 525-532, 2011.

DE JUAN, Anna *et al.* Spectroscopic imaging and chemometrics: a powerful combination for global and local sample analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 70-79, 2004

DE MATOS, Iara Lisboa *et al.* Constituents of essential oil and hydrolate of leaves of *Campomanesia vitoris* Landrum. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 10, p. 1289-1292, 2015.

DÉGARDIN, Klara; ROGGO, Yves; MARGOT, Pierre. Understanding and fighting the medicine counterfeit market. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 87, p. 167–175, 2014.

DOTY, Kyle C.; MURO, Claire K.; LEDNEV, Igor K. Predicting the time of the crime: Bloodstain aging estimation for up to two years. **Forensic Chemistry**, v. 5, p. 1–7, 2017.

EWING, Andrew V.; KAZARIAN, Sergei G. Infrared spectroscopy and spectroscopic imaging in forensic science. **Analyst**, v. 142, n. 2, p. 257–272, 2017.

FANCY, Sally-Ann *et al.* Gas chromatography/flame ionisation detection mass spectrometry for the detection of endogenous urine metabolites for metabonomic studies and its use as a complementary tool to nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Rapid communications in mass spectrometry: RCM**, v. 20, p. 2271–2280, 2006.

FERNANDEZ, Facundo M. *et al.* Poor quality drugs: grand challenges in high throughput detection, countrywide sampling, and forensics in developing countries. **The Analyst**, v. 136, n. 15, p. 3073–3082, 2011.

FLYNN, Katherine *et al.* Forensic Applications of Infrared Chemical Imaging: Multi-Layered Paint Chips. **Journal of forensic sciences**, v. 50, p. 832–841, 2005.

GENDRIN, C.; ROGGO, Y.; COLLET, C. Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, n. 3, p. 533–553, 2008.

GONZÁLEZ, Marina *et al.* Methodologies applied to fingerprint analysis. **Journal of Forensic Sciences**, Mar. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1556-4029.14313>>. Acesso em: 16 mar. 2020.

GONZÁLEZ, Marina. **Perfil Químico de Amostras de Canábis apreendidas no estado do Rio Grande do Sul**. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

GÖRÖG, Sándor. Recent Advances in the Analysis of Steroid Hormones. **Analytical Sciences**, v. 20, n. 5, p. 767-82, 2004.

GRAHAM, Michael R. *et al.* Counterfeiting in performance- and image-enhancing drugs. **Drug Testing and Analysis**, v. 1, n. 3, p. 135-42, 2009.

HURTADO, Renato Lopes; LASMAR, Marcelo Carvalho. Medicamentos falsificados e contrabandeados no Brasil: panorama geral e perspectivas de combate ao seu consumo. **Cadernos de Saude Publica**, v. 30, n. 4, p. 891–895, 2014.

JAUMOT, Joaquim *et al.* A graphical user-friendly interface for MCR-ALS: A new tool for multivariate curve resolution in MATLAB. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 76, p. 101–110, 2005.

JAUMOT, Joaquim; DE JUAN, Anna; TAULER, Roma. MCR-ALS GUI 2.0: new features and applications. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 140, p. 1–12, 2015.

JAYARAMAN, A. *et al.* Study of the photodegradation of 2-bromophenol under UV and sunlight by spectroscopic, chromatographic and chemometric techniques. **Journal of Chromatography B**, v. 910, p. 138–148, 2012.

JUNG, Claudio R. *et al.* A new methodology for detection of counterfeit Viagra and Cialis tablets by image processing and statistical analysis. **Forensic Science International**, v. 216, p. 92–96, 2012.

KAHMANN, A. *et al.* Wavenumber selection method to determine the concentration of cocaine and adulterants in cocaine samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 152, p. 120-127, 2018 a.

KAHMANN, A. *et al.* Interval importance index to select relevant ATR-FTIR wavenumber Intervals for falsified drug classification. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 158, p. 494–503, 2018 b.

KAMATOU, Guy Paulin; VILJOEN, A. M. Comparison of fatty acid methyl esters of palm and palmist oils determined by GCxGC–ToF–MS and GC–MS/FID. **South African Journal of Botany**, v. 112, p. 483–488, 2017.

KANBOLAT, Seyda *et al.* Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxic, Anticholinesterase, Antityrosinase Activities and Characterisation of Volatile Compounds of *Verbascum oocarpum* by SPME and GC-FID/MS. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 24, p. 1–12, 2018.

KOVALESKI, John *et al.* Impurities in generic pharmaceutical development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 1, p. 56–63, 2007.

KWOK, K.; TAYLOR, L. S. Analysis of counterfeit Cialis® tablets using Raman microscopy and multivariate curve resolution. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [S.l.], v. 66, p. 126–135, 2012

LANZAROTTA, Adam *et al.* Analysis of counterfeit pharmaceutical tablet cores utilizing macroscopic infrared spectroscopy and infrared spectroscopic imaging. **Analytical Chemistry**, v. 83, n. 15, p. 5972–5978, 2011.

LANZAROTTA, Adam. Analysis of forensic casework utilizing infrared spectroscopic imaging. **Sensors**, v. 16, n. 3, 2016.

LOPES, Marta B. *et al.* Near-infrared hyperspectral unmixing based on a minimum volume criterion for fast and accurate chemometric characterization of counterfeit tablets. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 1462–1469, 2010.

MARCELO, M. C. A. *et al.* Profiling cocaine by ATR-FTIR. **Forensic Science International**, v. 46, p. 65-71, 2015.

MARCHETI, Ravane Gracy Ament. **Avaliação da falsificação de medicamentos a partir dos dados de laudos periciais do Departamento de Polícia Federal no Brasil no período de 2006 a 2012.** 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, Brasília, DF, 2014.

MARÇO, Paulo Henrique *et al.* Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 9, p. 1525–1532, 2014.

MARIOTTI, Kristiane de Cássia *et al.* Trends in counterfeits amphetamine-type stimulants after its prohibition in Brazil. **Forensic Science International**, v. 229, p. 23–26, 2013.

MAZIVILA, Sarmiento J.; OLIVIERI, Alejandro C. Chemometrics coupled to vibrational spectroscopy and spectroscopic imaging for the analysis of solid-phase pharmaceutical products: A brief review on non-destructive analytical methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 108, p. 74–87, 2018.

MORGAN, Tonya *et al.* Use of Dual Detection in the Gas Chromatographic Analysis of Oleaginous Biomass Feeds and Biofuel Products To Enable Accurate Simulated Distillation and Lipid Profiling. **Energy Fuels**, v. 31, n. 9, p. 9498–9506, 2017.

MUSSHOFF, Frank; DALDRUP, Thomas; RITSCH, Mathias. Black Market in Anabolic Steroids—Analysis of Illegally Distributed Products. **Journal of Forensic Sciences**, Vol. 42, No. 6, pp. 1119-1125, 1997.

NEVES, Diana B. J. *et al.* Detection of counterfeit durateston® using fourier transform infrared spectroscopy and partial least squares-discriminant analysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 7, p. 1288–1296, 2017.

NEVES, Diana Brito da Justa; CALDAS, Eloisa Dutra. GC–MS quantitative analysis of black market pharmaceutical products containing anabolic androgenic steroids seized by the Brazilian Federal Police. **Forensic Science International**, v. 275, p. 272-281, 2017.

NEVES, Diana Brito da Justa; MARCHETI, Ravane Gracy Ament; CALDAS, Eloisa Dutra. Incidence of anabolic steroid counterfeiting in Brazil. **Forensic Science International**, v. 228, n. 1–3, p. 81–83, 2013.

NGUYEN, Michaela *et al.* Pyrolysis behaviour study of a tar- and sulphur-rich brown coal and GC-FID/MS analysis of its tar. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 115, p. 194-202, 2015.

NIELEN, Michel W. F. *et al.* Screening for anabolic steroids and related compounds in illegal cocktails by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and liquid chromatography/quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry with accurate mass measurement. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 15, n. 17, p. 1577-85, 2001.

OMS, Organização Mundial da Saúde. **Counterfeit drugs: Guidelines for the development of measures to combat counterfeit drugs**. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 1999. 60 p.

OMS, Organização Mundial da Saúde. **Sistema Mundial de Vigilância e Monitorização da OMS para os Produtos Médicos de Qualidade Inferior e Falsificados** [WHO Global Surveillance and Monitoring System for substandard and falsified medical products]. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2018.

ORTIZ, Rafael S. *et al.* Chemical Fingerprinting of Counterfeits of Viagra and Cialis Tablets and Analogues via Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 2, p. 919–928, 2011.

ORTIZ, Rafael S. *et al.* Fingerprinting of sildenafil citrate and tadalafil tablets in pharmaceutical formulations via X-ray fluorescence (XRF) spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 58, n. 1, p. 7–11, 2012 a.

ORTIZ, Rafael S. *et al.* Physical profile of counterfeit tablets Viagra® and Cialis®. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 3, p. 487–495, 2012 b.

ORTIZ, Rafael S. *et al.* Counterfeit Cialis and Viagra fingerprinting by ATR-FTIR spectroscopy with chemometry: Can the same pharmaceutical powder mixture be used to falsify two medicines? **Forensic Science International**, v. 226, n. 1–3, p. 282–289, 2013 a.

ORTIZ, Rafael S. *et al.* Profiling counterfeit Cialis, Viagra and analogs by UPLC-MS. **Forensic Science International**, v. 229, p. 13–20, 2013 b.

ORTIZ, Rafael Scorsatto. **Perfil químico e tecnológico de medicamentos falsificados: uma abordagem estatística multivariada para os casos do Viagra e do Cialis**. 90 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

ORTIZ, Rafael Scorsatto; ANTUNES, Marina Venzon; LINDEN, Rafael. Determinação de Citrato de Sildenafil e de Tadalafila por Cromatografia Líquida de Ultraeficiência com Detecção por Arranjo de Diodos (CLUE-DAD). **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 389–393, 2010.

PACCHIAROTTA, Tiziana *et al.* Evaluation of GC-APCI/MS and GC-FID as a complementary platform. **Journal of biomolecular techniques : JBT**, v. 21, n. 4, p. 205–213, 2010.

PANOVSKA, Ana Poceva *et al.* Optimization of HS-GC-FID-MS Method for Residual Solvent Profiling in Active Pharmaceutical Ingredients Using DoE. **Journal of Chromatographic Science**, v. 54, n. 2, p. 103–111, 2016.

PAVIA, D.L., *et al.*, **Introdução à Espectroscopia**. Tradução da 4ª ed. norte-americana, Cengage Learning, 2010.

PELLEGRINI, Manuela *et al.* A simple toxicological analysis of anabolic steroid preparations from the black market. **Annales de Toxicologie Analytique**, v. 24, n. 2, p. 67-72, 2012.

PEREIRA, José Francielson Queiroz *et al.* Projection pursuit and PCA associated with near and middle infrared hyperspectral images to investigate forensic cases of fraudulent documents. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 412–419, 2017.

PROKUDINA, E. A. *et al.* Analysis of anabolic androgenic steroids by direct analysis in real time ionization with time-of-flight mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 392, n. 3, p. 28-33, 2015.

PUCHERT, T. *et al.* Near-infrared chemical imaging (NIR-CI) for counterfeit drug identification-A four-stage concept with a novel approach of data processing (Linear Image Signature). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, n. 1, p. 138–145, 2010.

REBIERE, Hervé *et al.* Investigation of the composition of anabolic tablets using near infrared spectroscopy and Raman chemical imaging. **Drug Testing and Analysis**, v. 8, n. 3–4, p. 370–377, 2016.

REBIERE, Hervé *et al.* Fighting falsified medicines: the analytical approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 142, p. 286–306, 2017.

REBIERE, Hervé *et al.* Raman chemical imaging for spectroscopic screening and direct quantification of falsified drugs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 148, p. 316-323, 2018.

RICCI, Camilla *et al.* Chemical Imaging of Latent Fingerprint Residues. **Applied Spectroscopy**, v. 61, n. 5, p. 514–522, 2007 a.

RICCI, Camilla *et al.* Combined Fourier-transform infrared imaging and desorption electrospray-ionization linear ion-trap mass spectrometry for analysis of counterfeit antimalarial tablets. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 2, p. 551–559, 2007 b.

RICCI, Camilla *et al.* Characterization of genuine and fake artesunate anti-malarial tablets using Fourier transform infrared imaging and spatially offset Raman spectroscopy through blister packs. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, n. 5, p. 1525–1532, 2007 c.

SAAD, Everardo D. *et al.* Inibidores de aromatase no câncer de mama: da doença metastática ao tratamento adjuvante. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 4, p. 555-567, 2002.

SABIN, Guilherme P. *et al.* Characterization of sildenafil citrate tablets of different sources by near infrared chemical imaging and chemometric tools. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 85, p. 207–212, 2013.

SABIN, Guilherme Post; ROCHA, Werickson Fortunato de Carvalho; POPPI, Ronei Jesus. Study of the similarity between distribution maps of concentration in near-infrared spectroscopy chemical imaging obtained by different multivariate calibration approaches. **Microchemical Journal**, v. 99, p. 542–547, 2011.



SACRÉ, P. Y. *et al.* Data processing of vibrational chemical imaging for pharmaceutical applications. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 101, p. 123–140, 2014.

SACRÉ, Pierre Yves *et al.* Impurity fingerprints for the identification of counterfeit medicines-A feasibility study. **Analytica Chimica Acta**, v. 701, n. 2, p. 224-31, 2011.

SANTOS, Maíra Kerpel dos *et al.* Comparison between counterfeit and authentic medicines : A novel approach using differential scanning calorimetry and hierarchical cluster analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 166, p. 304–309, 2019.

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2007.

ŠIMEK, Michal; GRÜNVALDOVÁ, Veronika; KRATOCHVÍL, Bohumil. A new way of solid dosage form samples preparation for SEM and FTIR using microtome. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 19, n. 4, p. 411-6, 2014.

SKOOG, Douglas A.; HOLLER, James F.; NIEMAN, Timothy. **Princípios de Análise Instrumental**. 5<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

THEVIS, Mario *et al.* Analysis of confiscated black market drugs using chromatographic and mass spectrometric approaches. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 32, n. 2, p. 232-40, 2008.

TISCIONE, Nicholas B. *et al.* Identification of volatiles by headspace gas chromatography with simultaneous flame ionization and mass spectrometric detection. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 32, n. 3, p. 232-40, 2013.

VAN POUCKE, C. *et al.* Determination of anabolic steroids in dietary supplements by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 586, n. 1-2, p. 35-42, 2007.

VISENTAINER, Jesuí Vergilio *et al.* Analytical Aspects of the Flame Ionization Detection in Comparison with Mass Spectrometry with Emphasis on Fatty Acids and Their Esters. *In: Advances in Gas Chromatography*. Xinghua Guo, IntechOpen, 2014

WALTERS, M. J.; AYERS, R. J.; BROWN, D. J. Analysis of illegally distributed anabolic steroid products by liquid chromatography with identity confirmation by mass spectrometry or infrared spectrophotometry. **Journal - Association of Official Analytical Chemists**, v. 73, n. 6, p. 904-26, 1990.

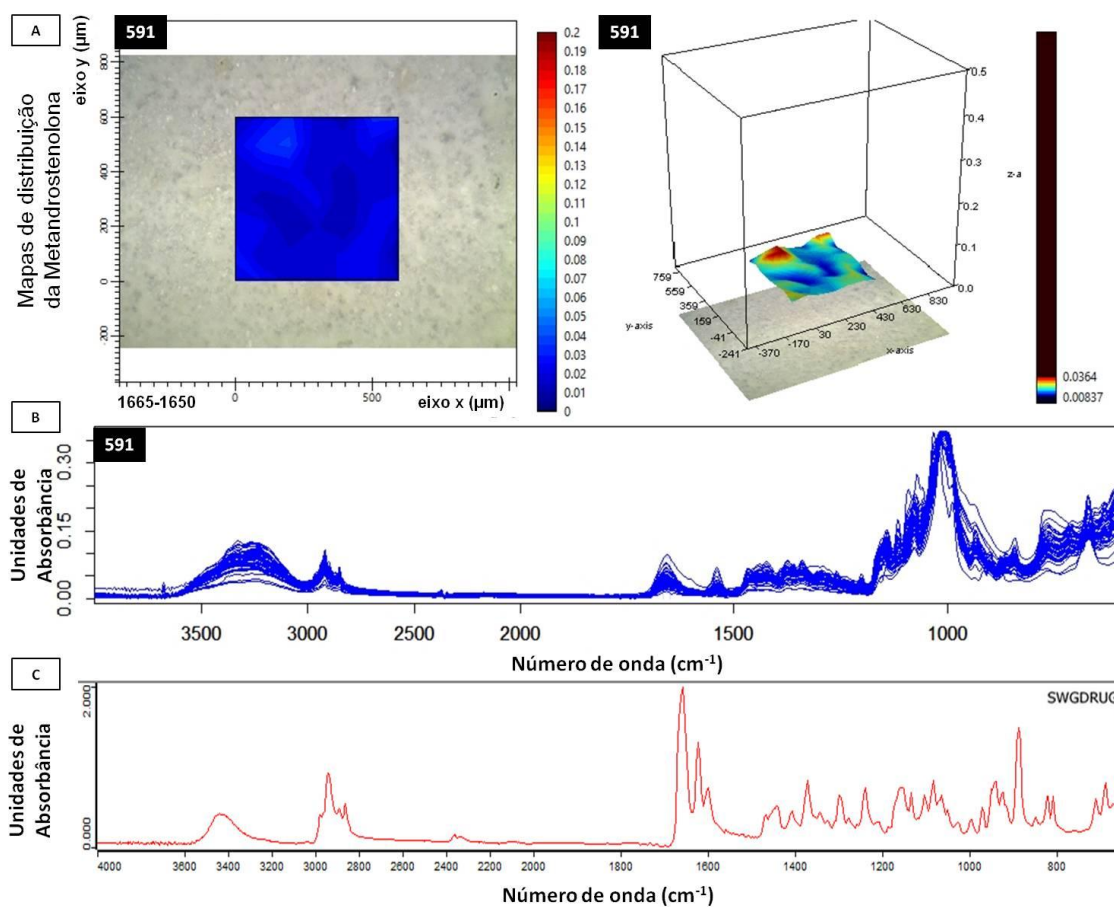
WILLIAMS, Diane K.; SCHWARTZ, Rebecca L.; BARTICK, Edward G. Analysis of Latent Fingerprint Deposits by Infrared Microspectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v. 58, n. 3, p. 313–316, 2004.



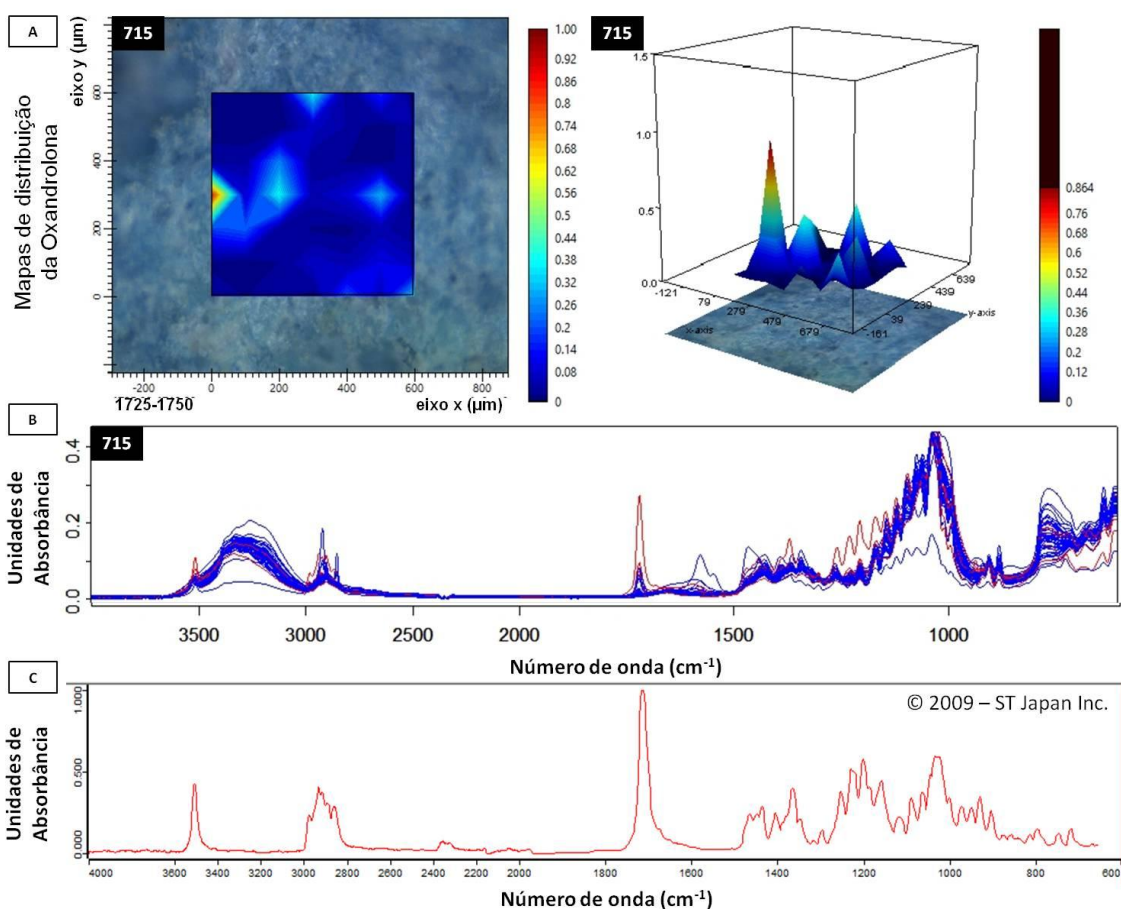
## APÊNDICE A

### MAPAS DE DISTRIBUIÇÃO – MÉTODO UNIVARIADO

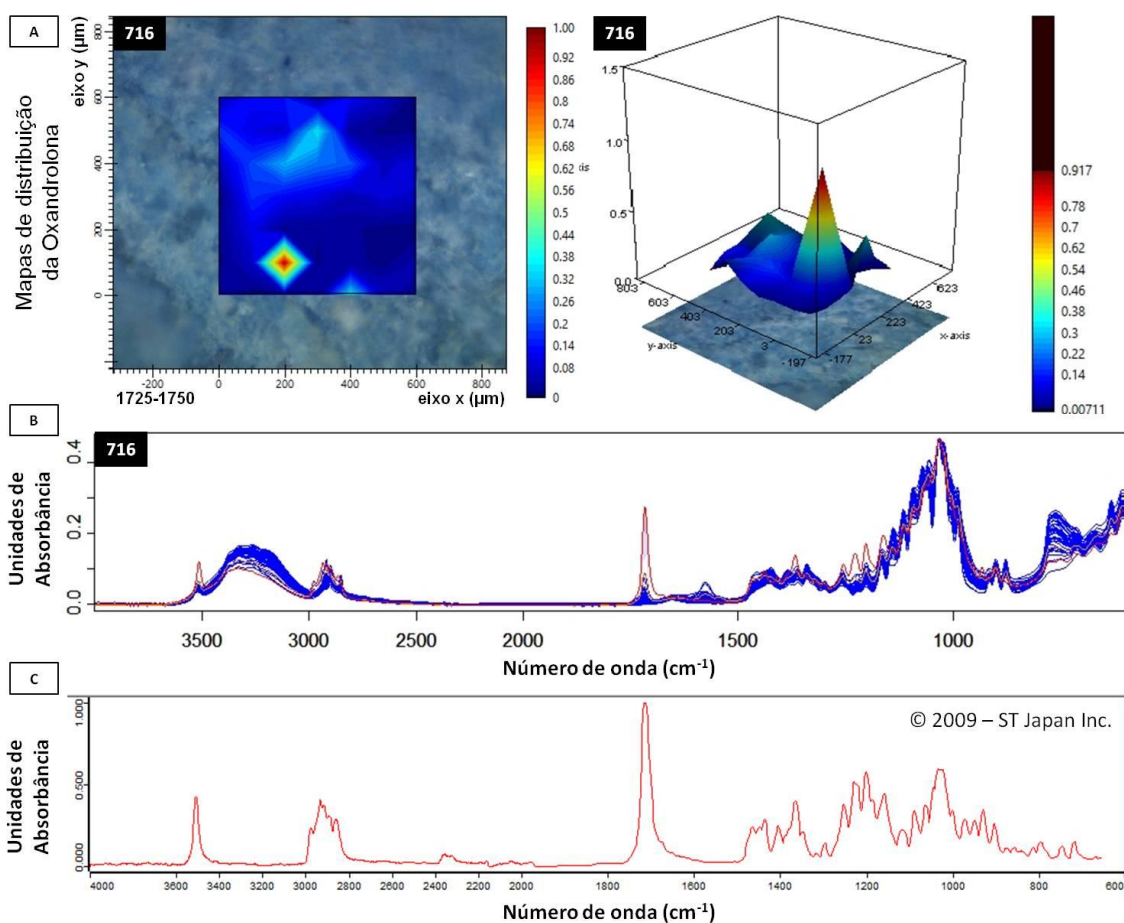
São apresentados os mapas de distribuição de princípios ativos em comprimidos de esteroides anabolizantes questionados, construídos a partir das técnicas de  $\mu$ ATR-FTIR e integração de bandas características. Para obter detalhes da metodologia utilizada, vide páginas 57 a 61 dessa dissertação.



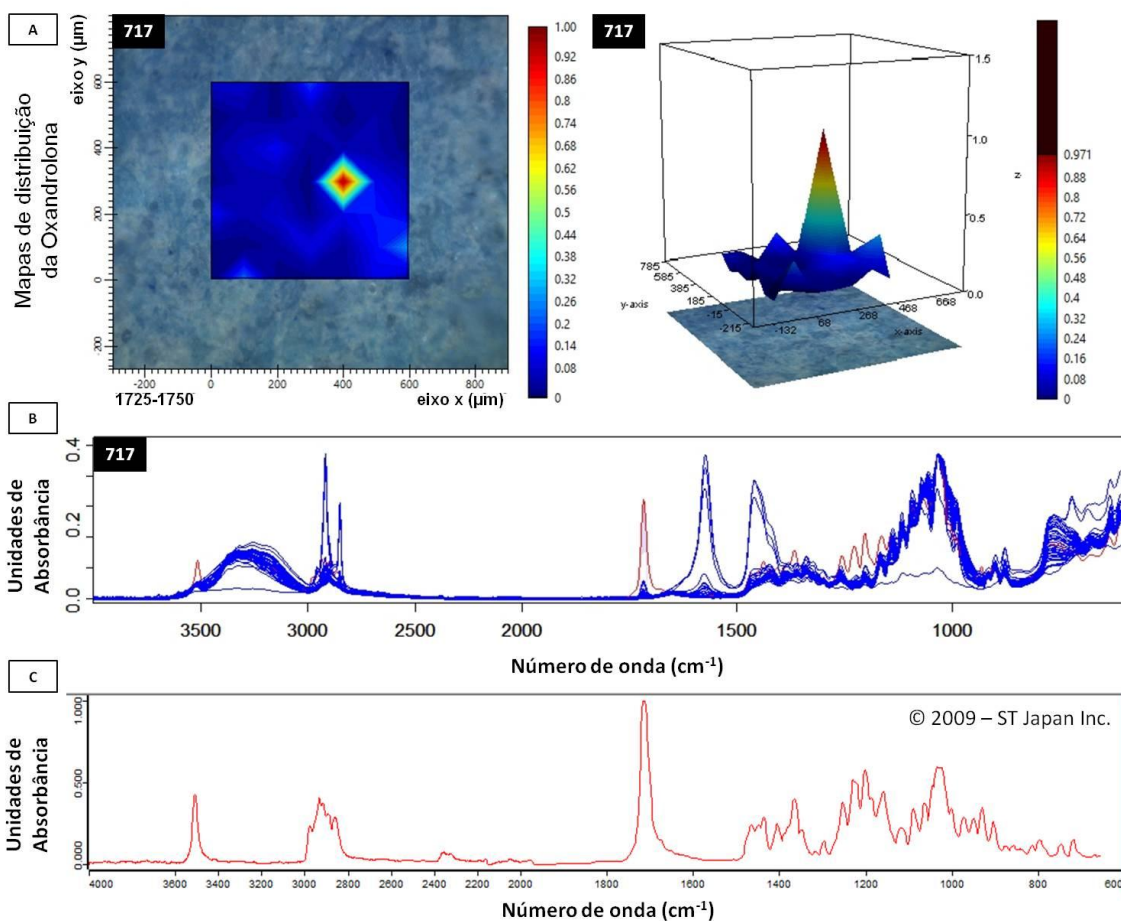
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 591. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: nenhum. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca *SWGDRUG* 2019-02-08).



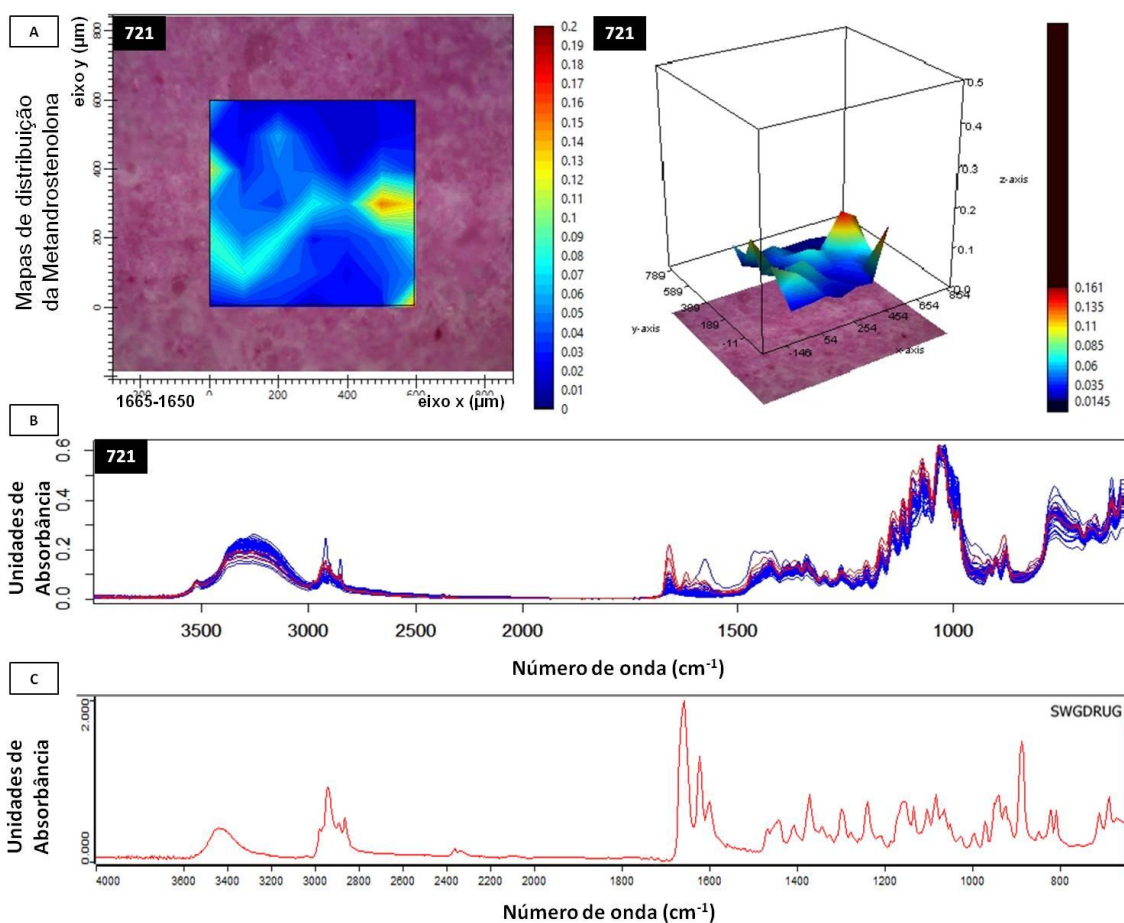
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 715. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oxandrolona, compreendida entre 1725-1750  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oxandrolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 – © 2009 STJapan Inc.*).



Resultados do método univariado para a amostra codificada como 716. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu\text{ATR-FTIR}$ : oxandrolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oxandrolona, compreendida entre 1725-1750  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oxandrolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).

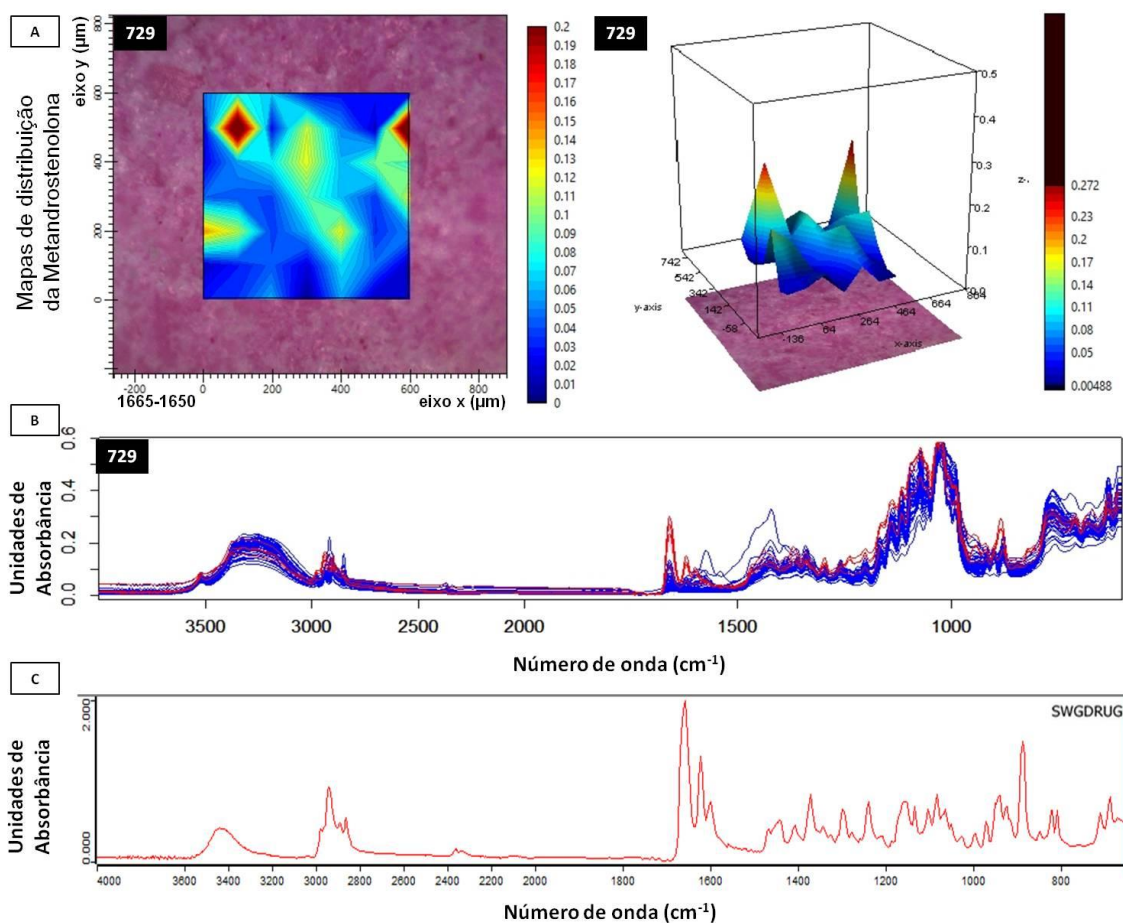


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 717. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oxandrolona, compreendida entre 1725-1750  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oxandrolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).



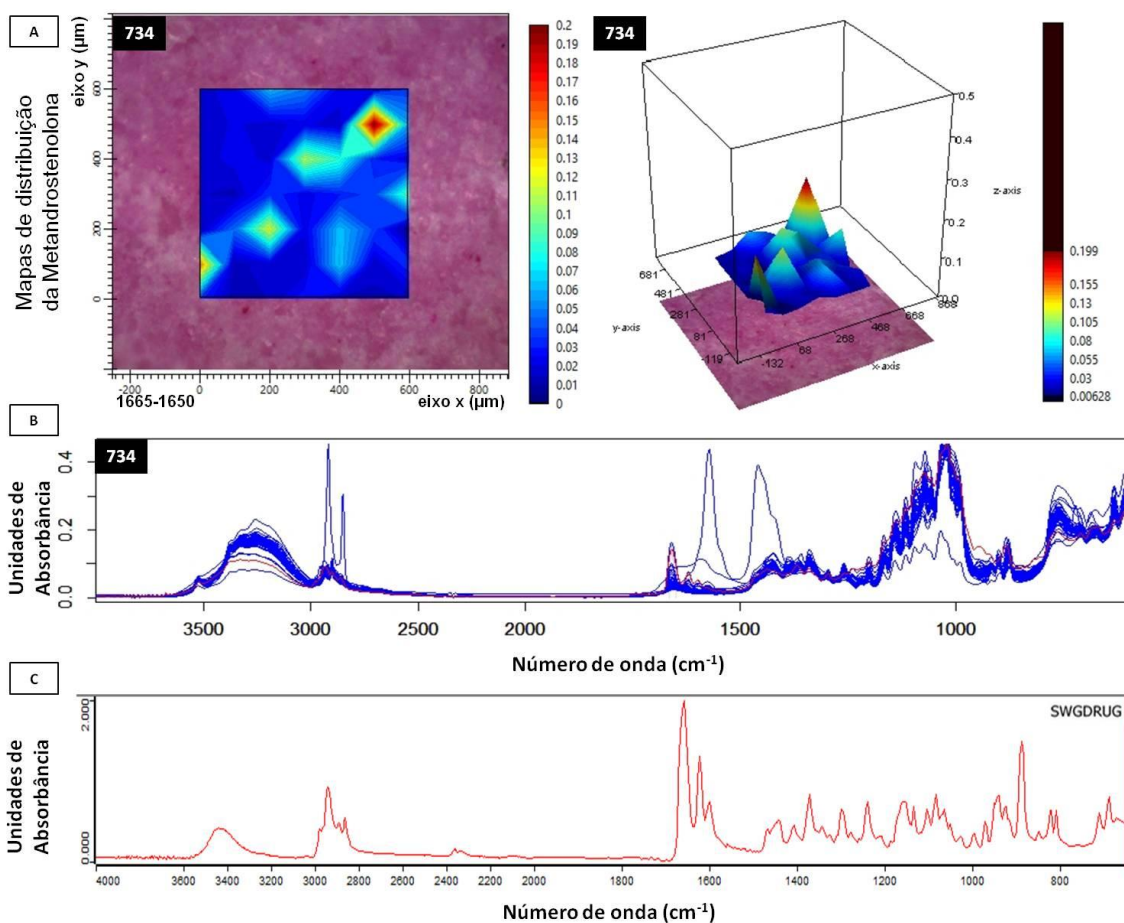
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 721. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca *SWGDRUG* 2019-02-08).



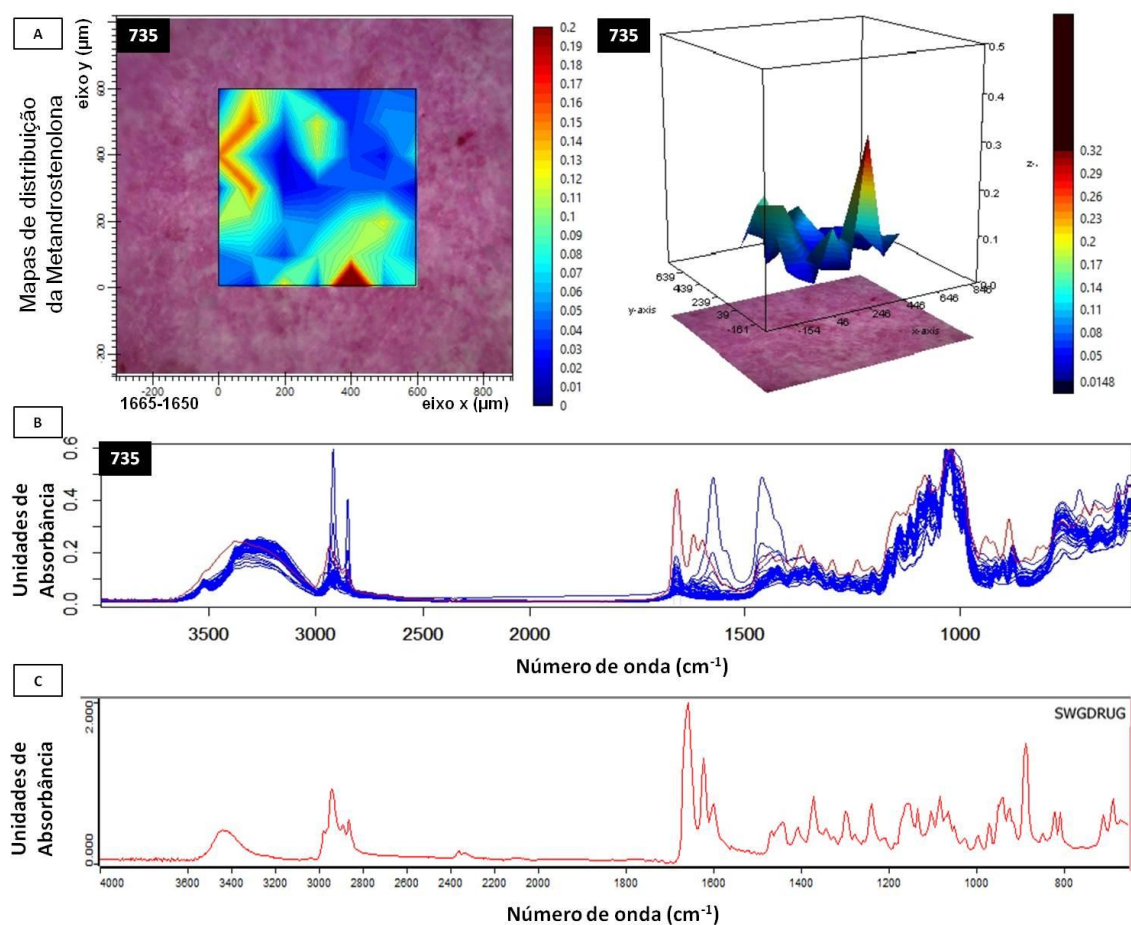


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 729. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca SWGDRUG 2019-02-08).

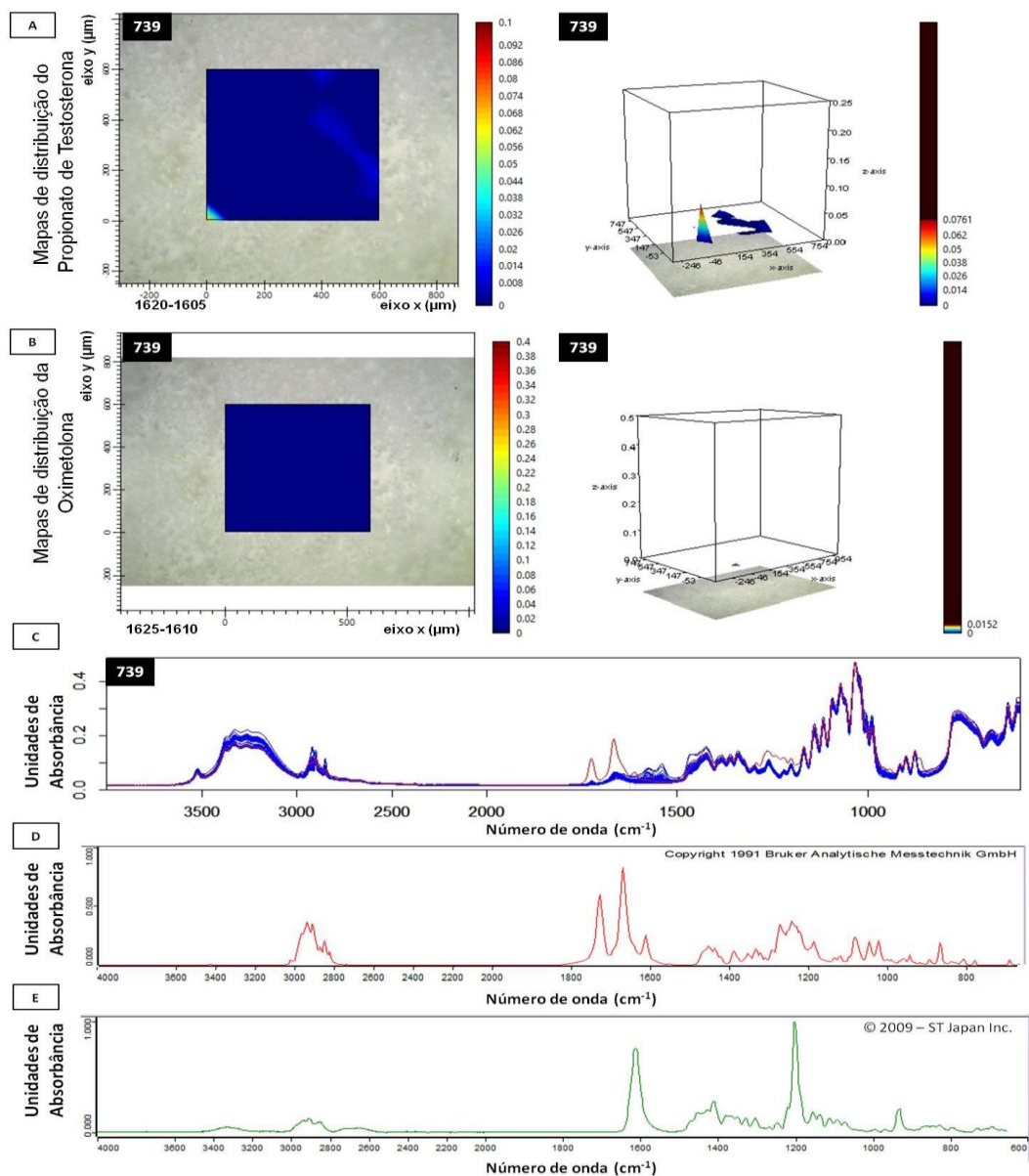




Resultados do método univariado para a amostra codificada como 734. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu\text{ATR-FTIR}$ : metandrostenolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca *SWGDRUG* 2019-02-08).

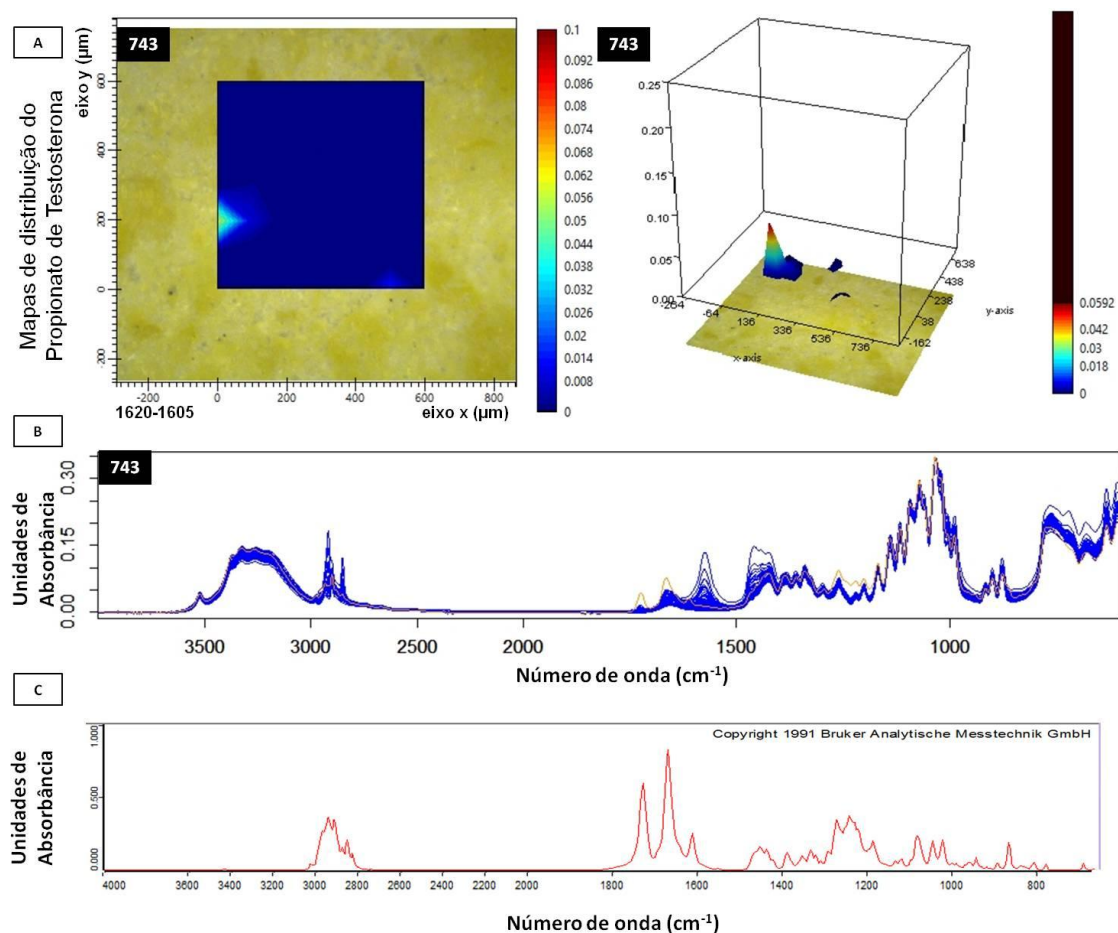


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 735. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu\text{ATR-FTIR}$ : metandrostenolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca *SWGDRUG 2019-02-08*).

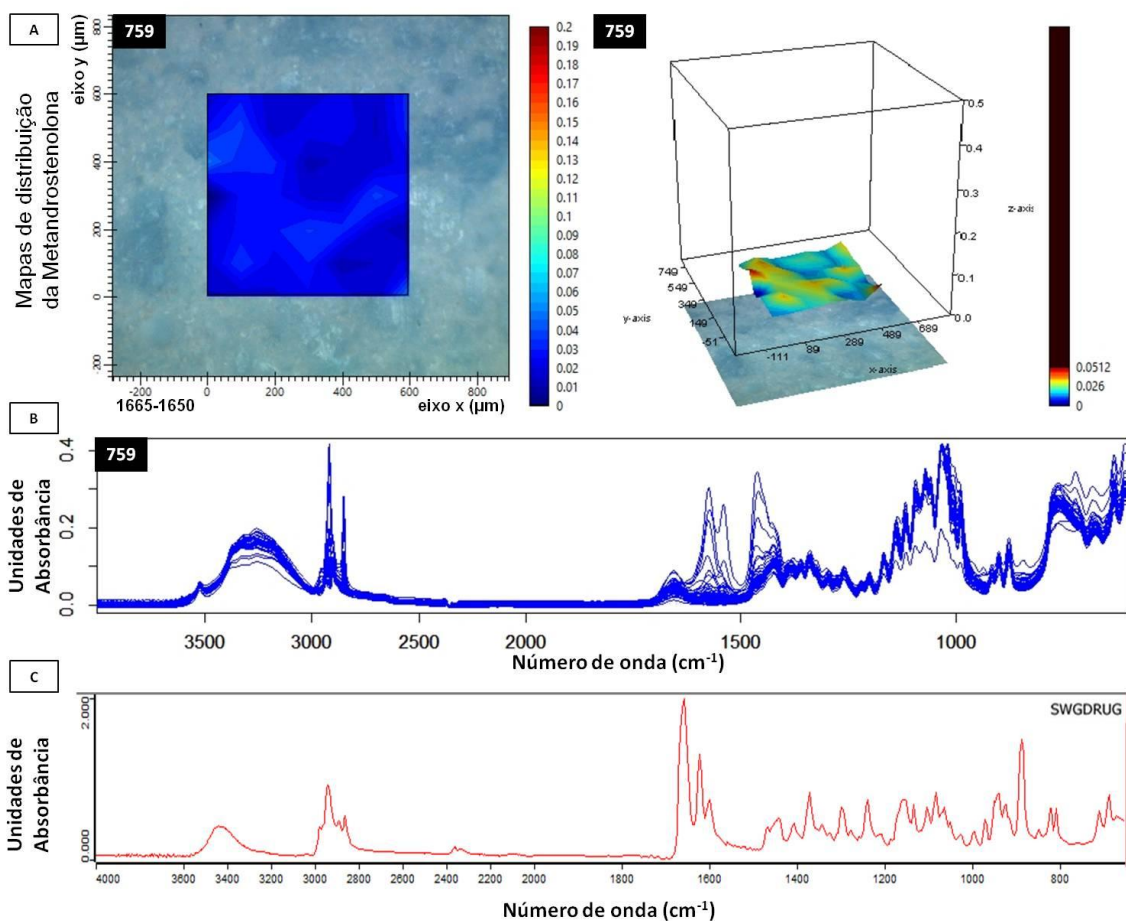


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 739. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: propionato de testosterona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica do propionato de testosterona, compreendida entre 1620-1605  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oximetolona, compreendida entre 1625-1610  $\text{cm}^{-1}$ . **C.** Espectros resultantes da análise da amostra. **D.** Espectro de referência da substância propionato de testosterona (Espectroteca PHARMA.A. S01 – Bruker). **E.** Espectro de referência da

substância oximetolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 – © 2009 STJapan Inc.*).

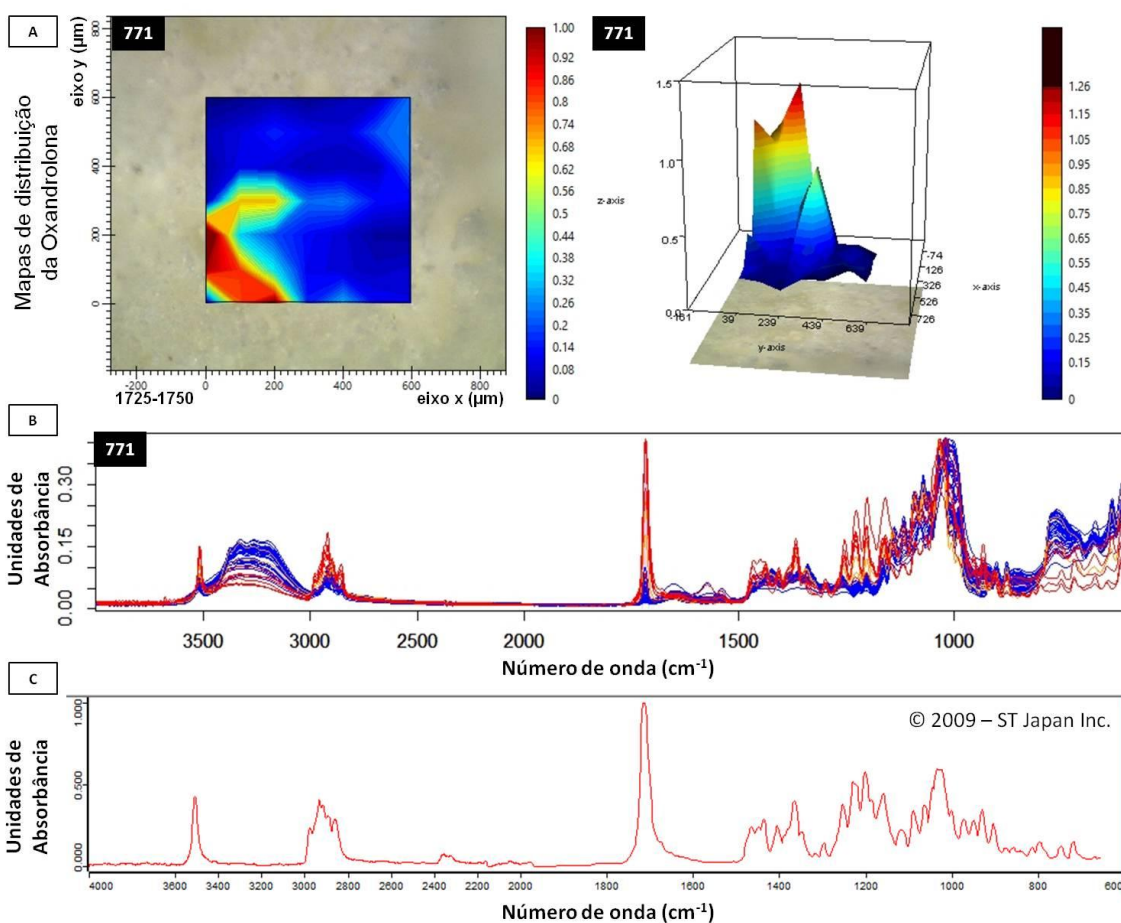


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 743. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: propionato de testosterona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: propionato de testosterona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica do propionato de testosterona, compreendida entre 1620-1605  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância propionato de testosterona (Espectroteca *PHARMA.A. S01 – Bruker*).

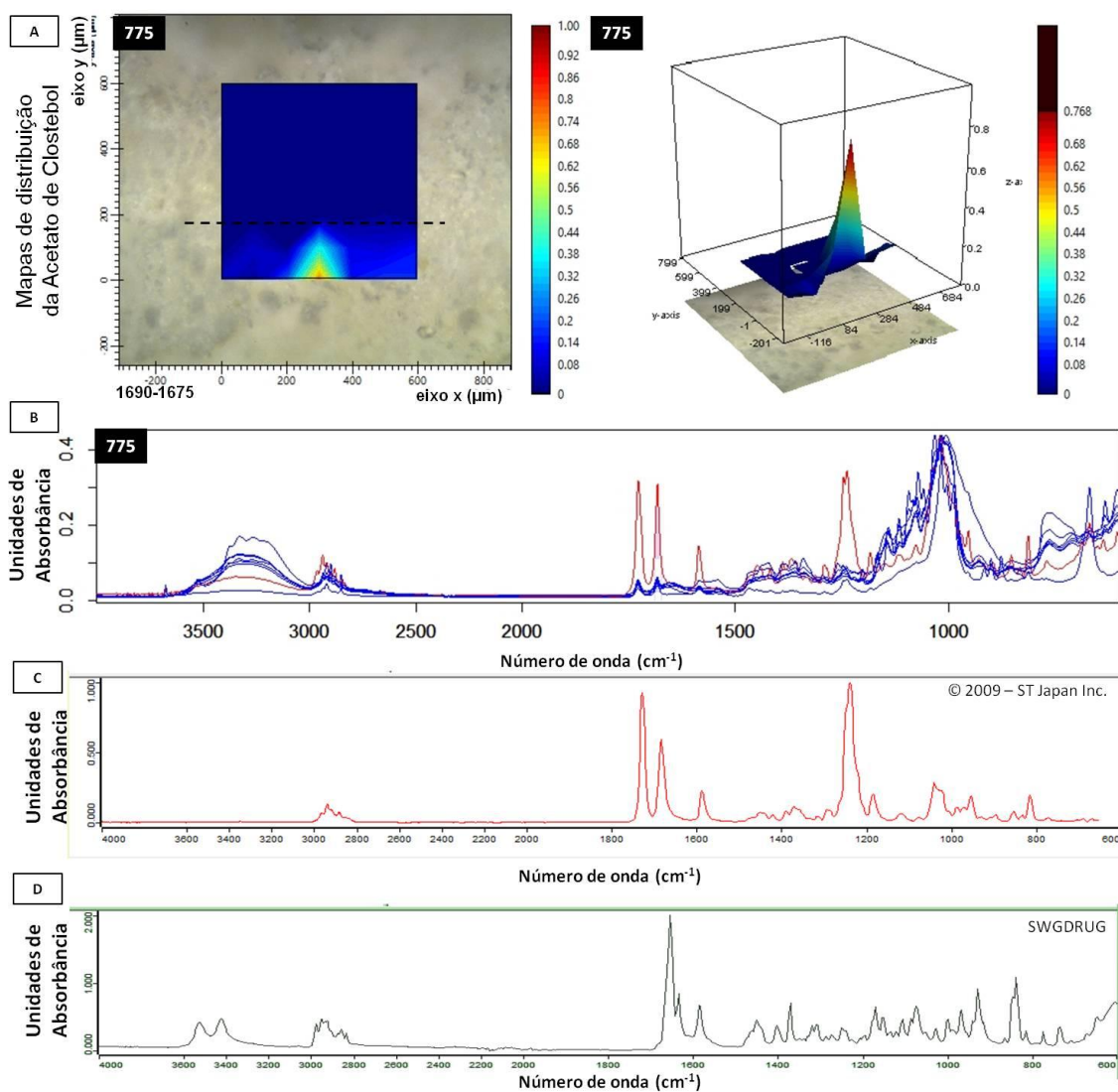


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 759. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu\text{ATR-FTIR}$ : nenhum. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca *SWGDRUG* 2019-02-08).



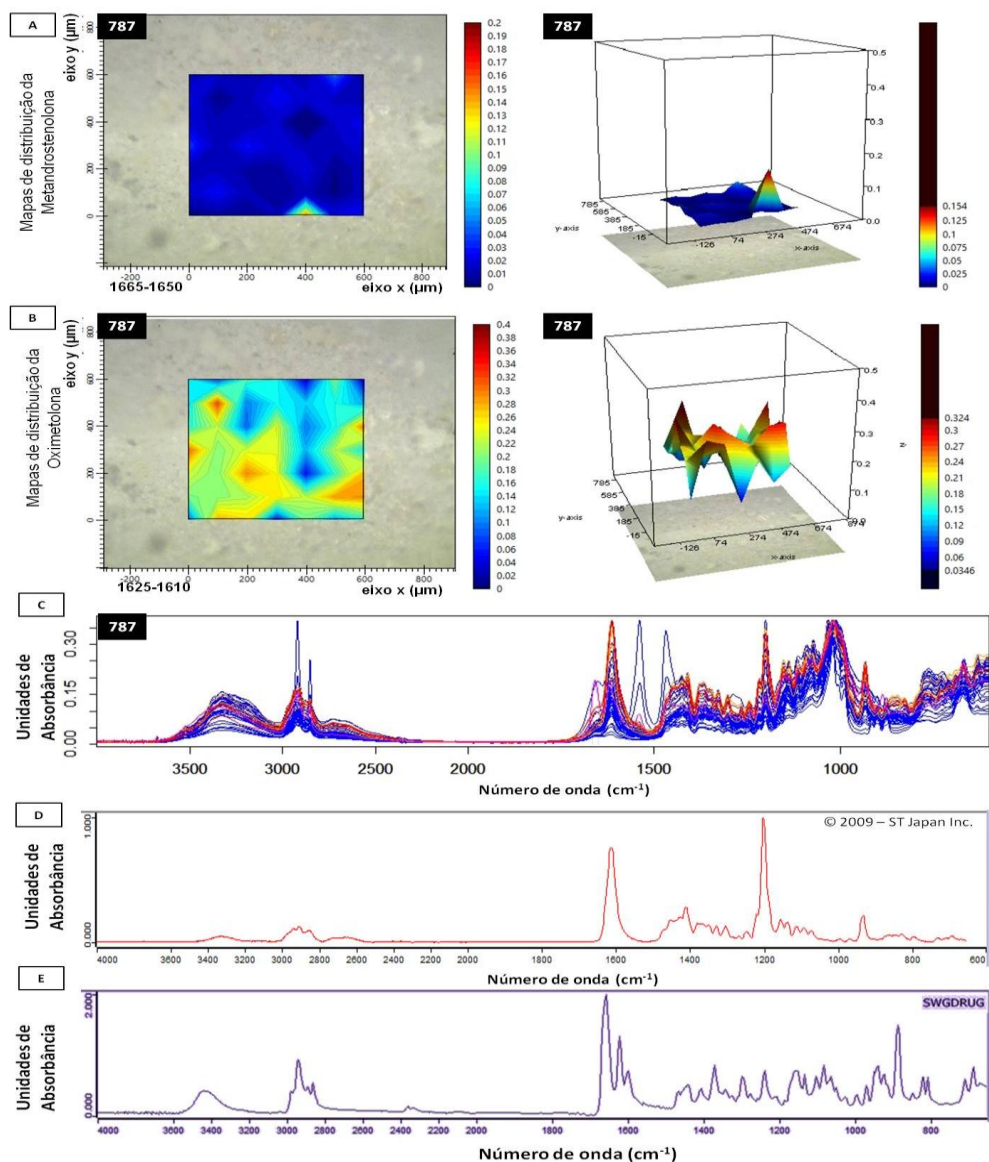


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 771. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oxandrolona, compreendida entre 1725-1750  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oxandrolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).



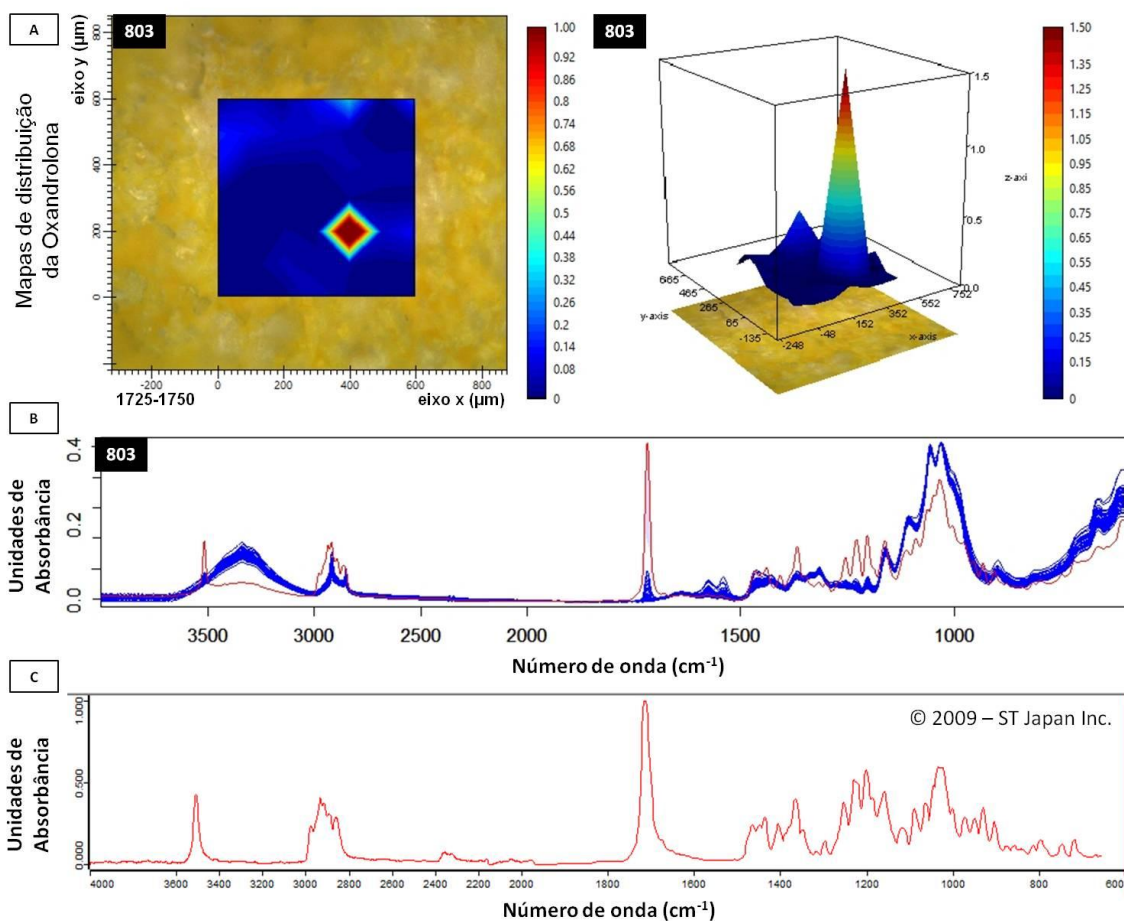
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 775. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: 4-clorodehidrometiltestosterona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu\text{ATR-FTIR}$ : acetato de clostebol. **A**. Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica do acetato de clostebol, compreendida entre 1690-1675  $\text{cm}^{-1}$ . **B**. Espectros resultantes da análise da amostra. **C**. Espectro de referência da substância acetato de clostebol (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.). **D**. Espectro de referência da substância 4-clorodehidrometiltestosterona (Espectroteca *SWGDRUG 2019-02-08*).

Observação: comprimido quebrou durante a análise. Desconsiderar a região superior do mapa de distribuição, uma vez que não é representativa da realidade

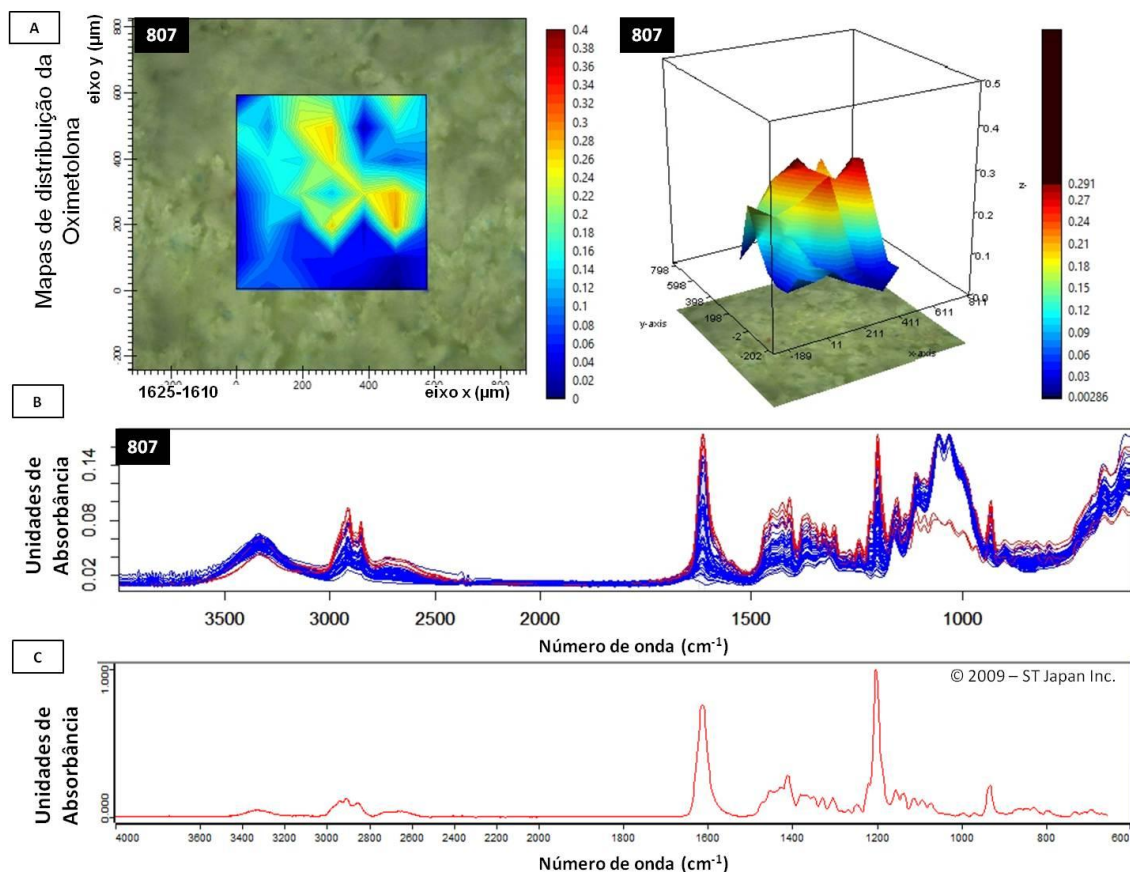


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 787. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oximetolona e metandrostenolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oximetolona, compreendida entre 1625 e 1610  $\text{cm}^{-1}$ . **C.** Espectros resultantes da análise da amostra. **D.** Espectro de referência da substância oximetolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.). **E.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca SWGDRUG 2019-02-08).

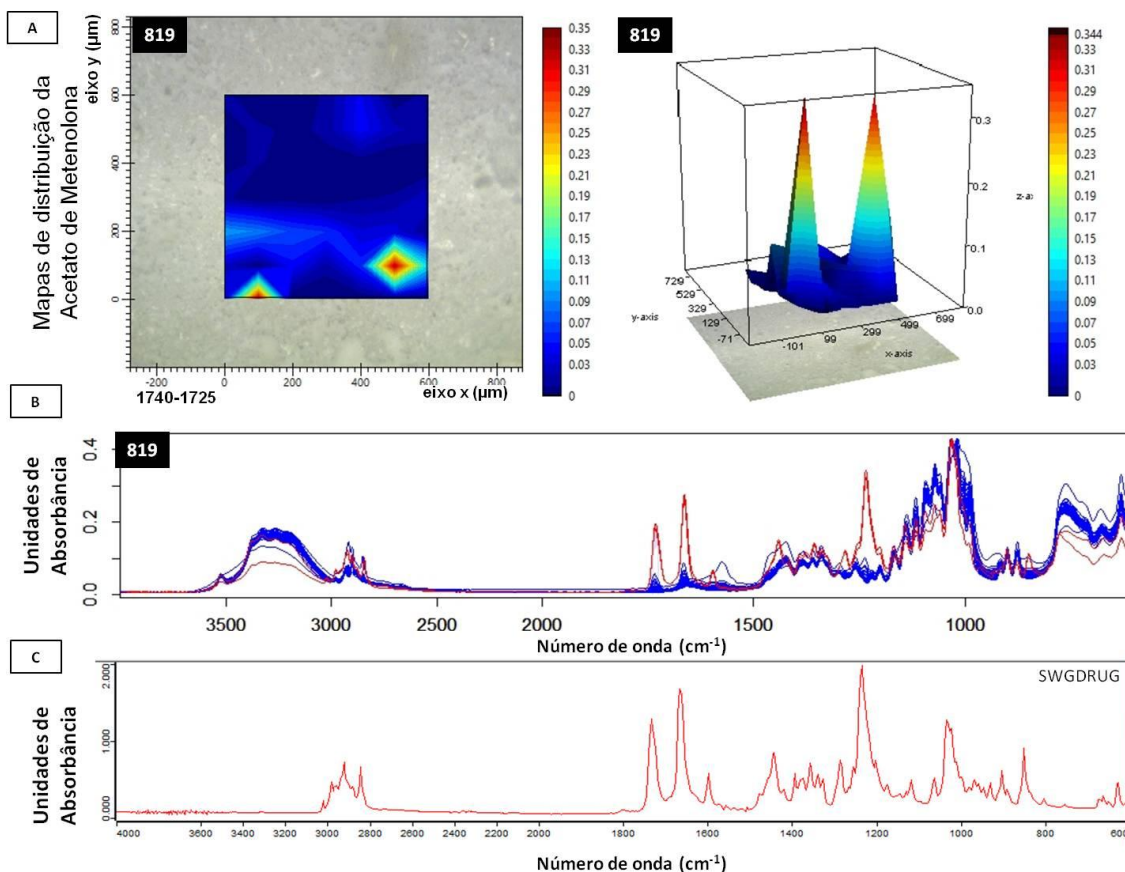




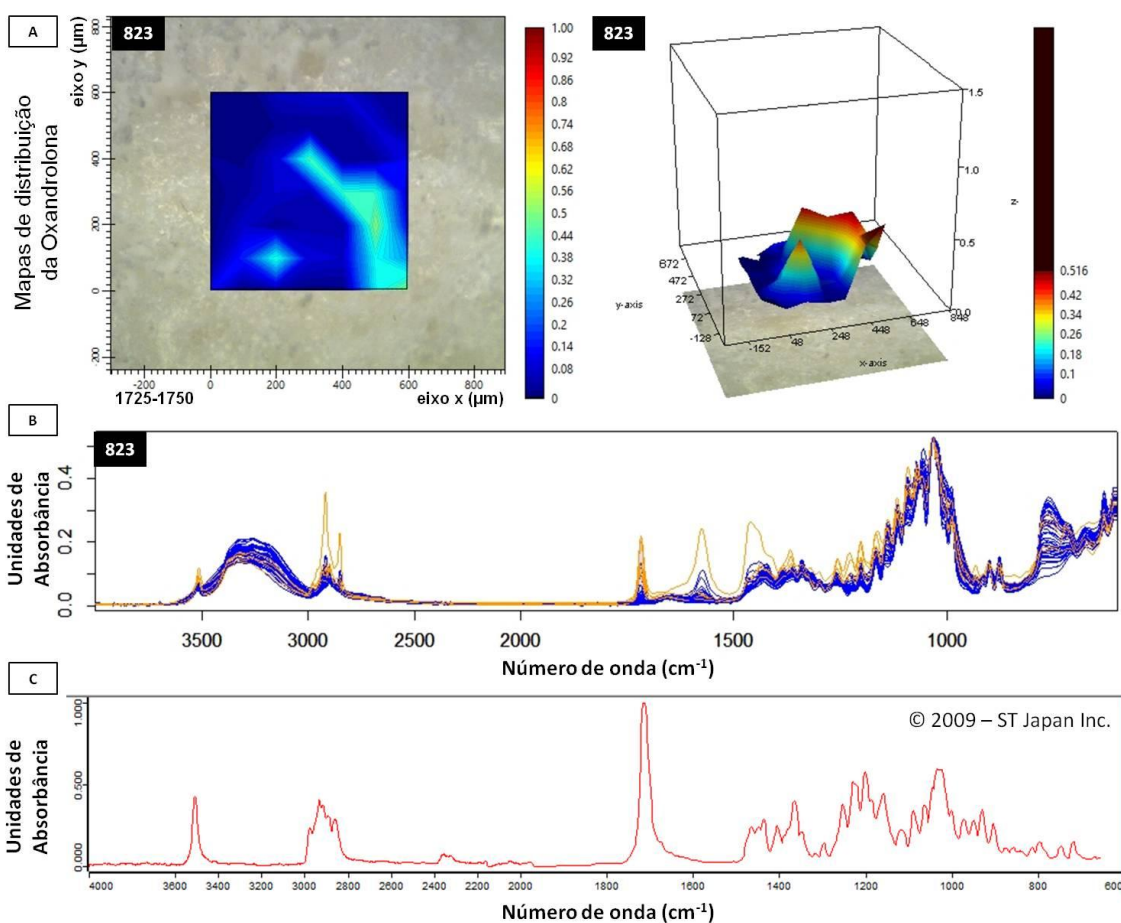
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 803. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oxandrolona, compreendida entre  $1725\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oxandrolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).



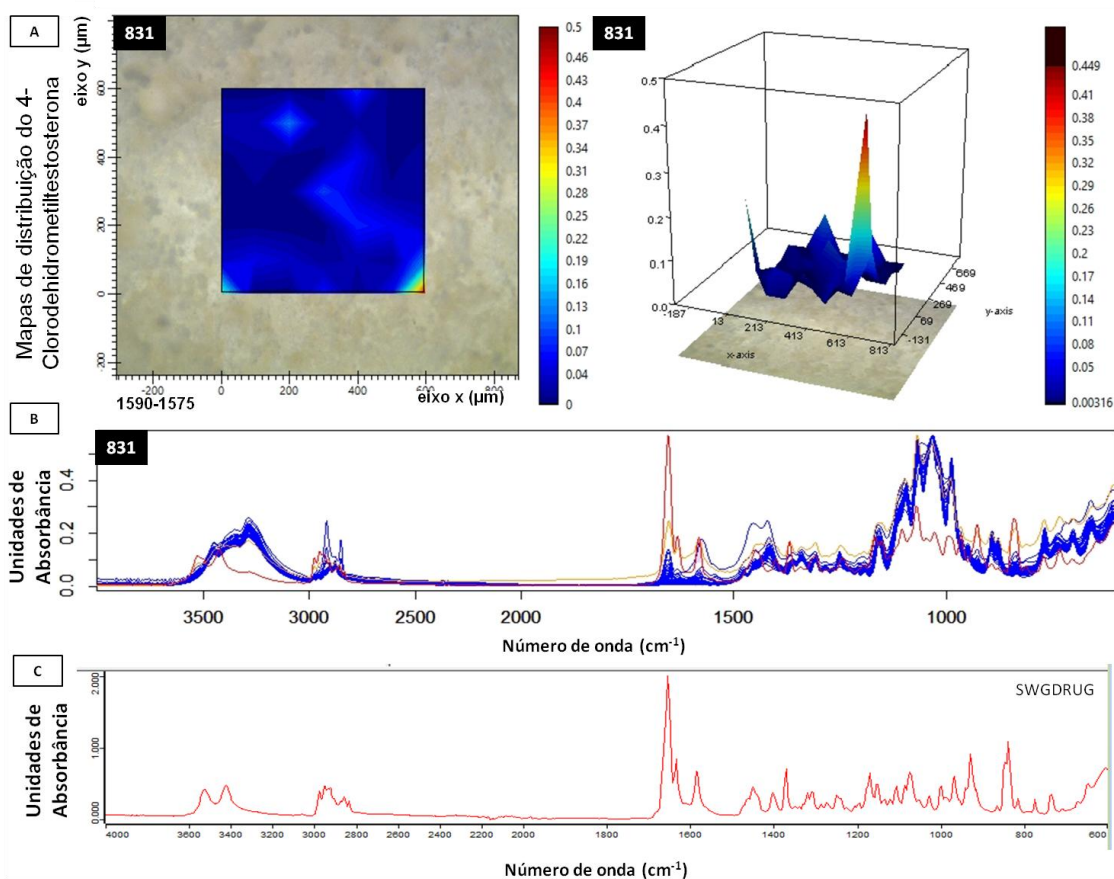
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 807. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oximetolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oximetolona, compreendida entre 1625 e 1610  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oximetolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).



Resultados do método univariado para a amostra codificada como 819. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: acetato de metenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu\text{ATR-FTIR}$ : acetato de metenolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da acetato de metenolona, compreendida entre 1740 e 1725  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância acetato de metenolona (Espectroteca: *SWGDRUG 2019-02-08*).

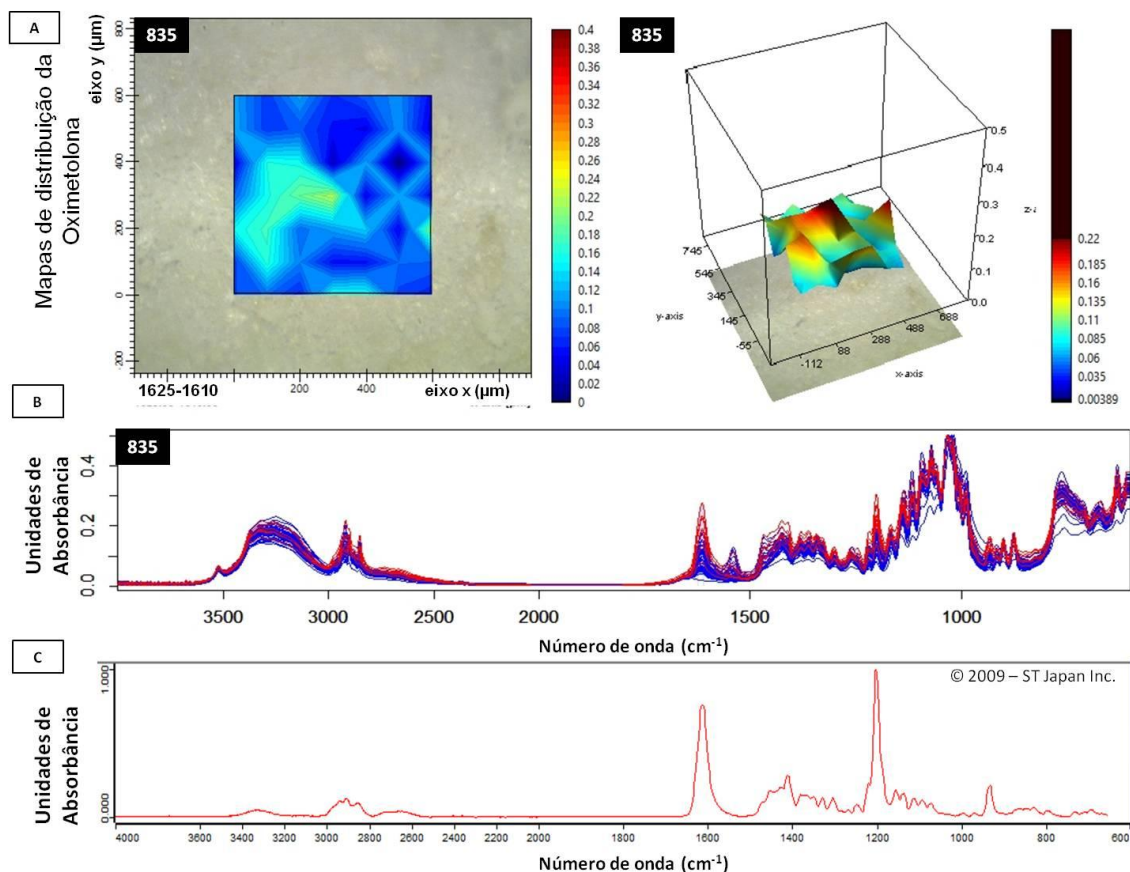


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 823. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oxandrolona, compreendida entre  $1725\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oxandrolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).

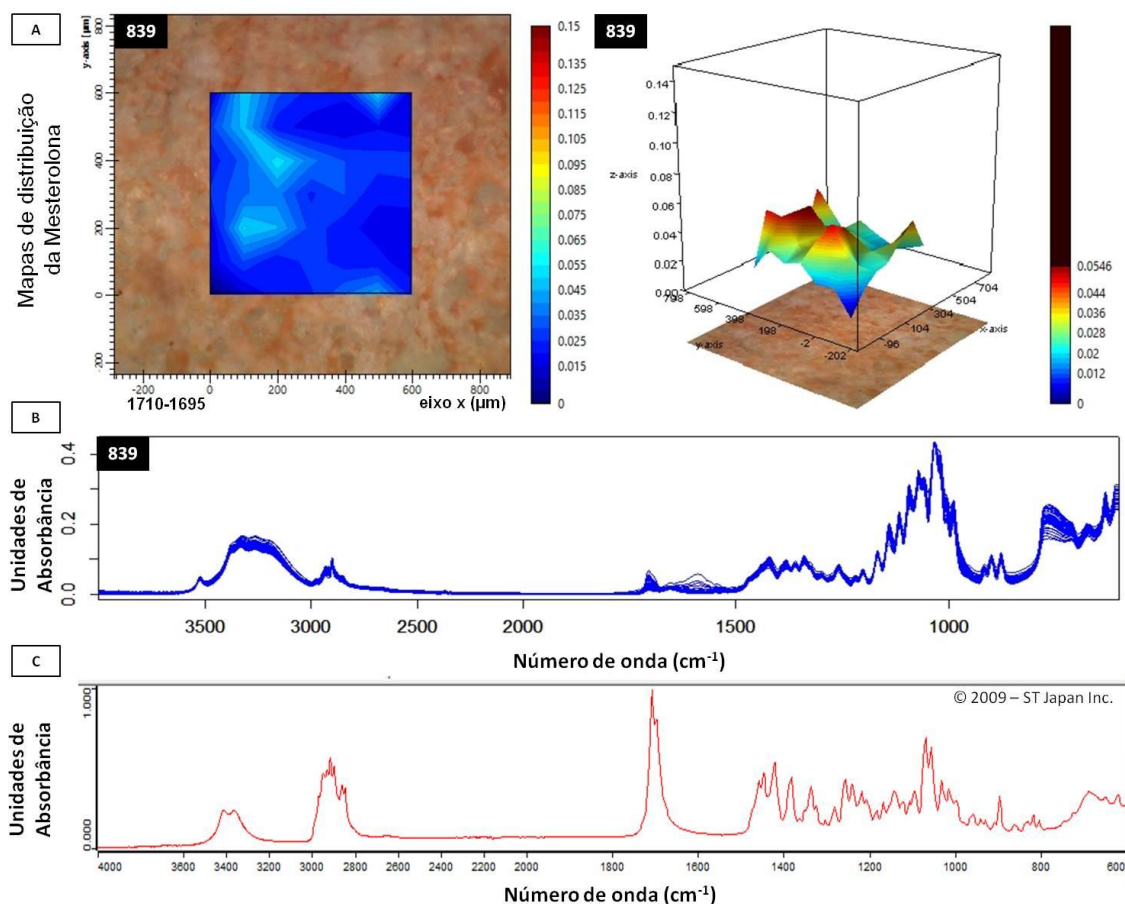


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 831. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: 4-clorodehidrometiltestosterona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu\text{ATR-FTIR}$ : 4-clorodehidrometiltestosterona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica do 4-clorodehidrometiltestosterona, compreendida entre  $1590\text{-}1575\text{ cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância 4-clorodehidrometiltestosterona (Espectroteca *SWGDRUG 2019-02-08*).

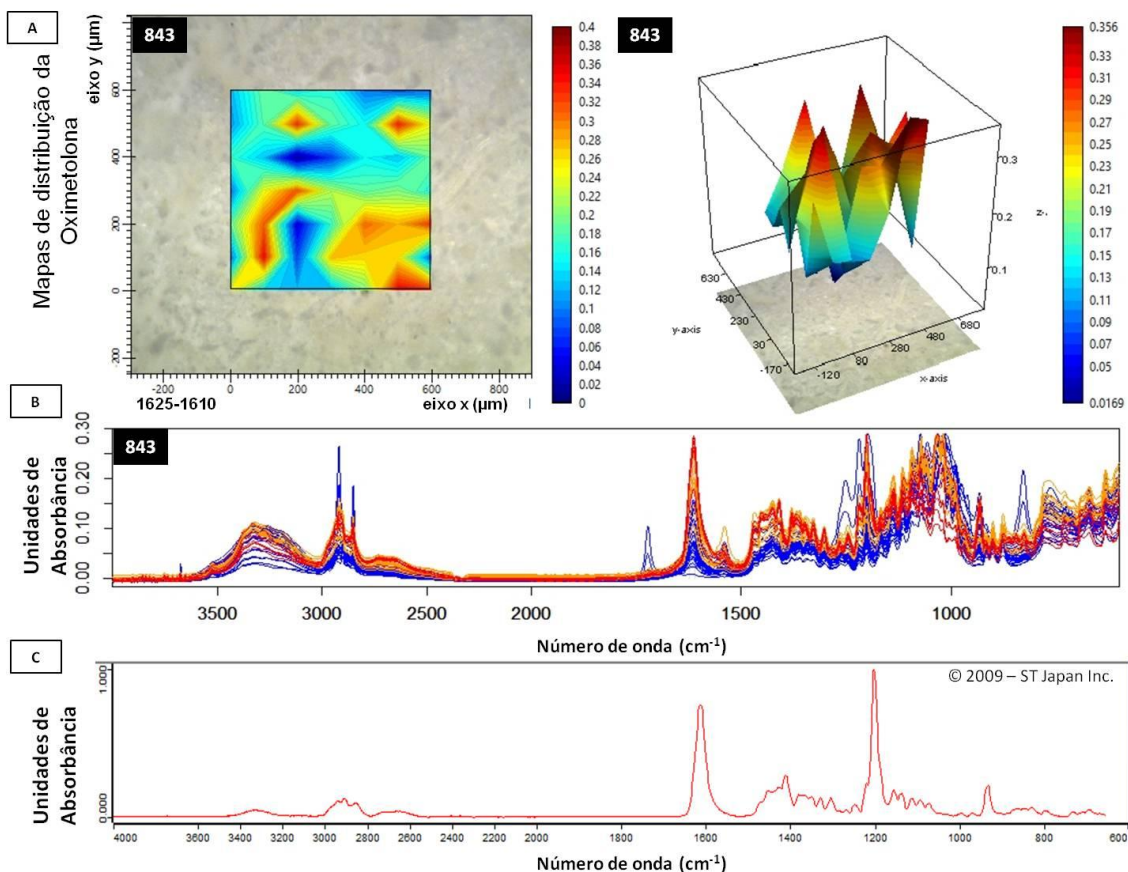




Resultados do método univariado para a amostra codificada como 835. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oximetolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oximetolona, compreendida entre 1625 e 1610  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oximetolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).

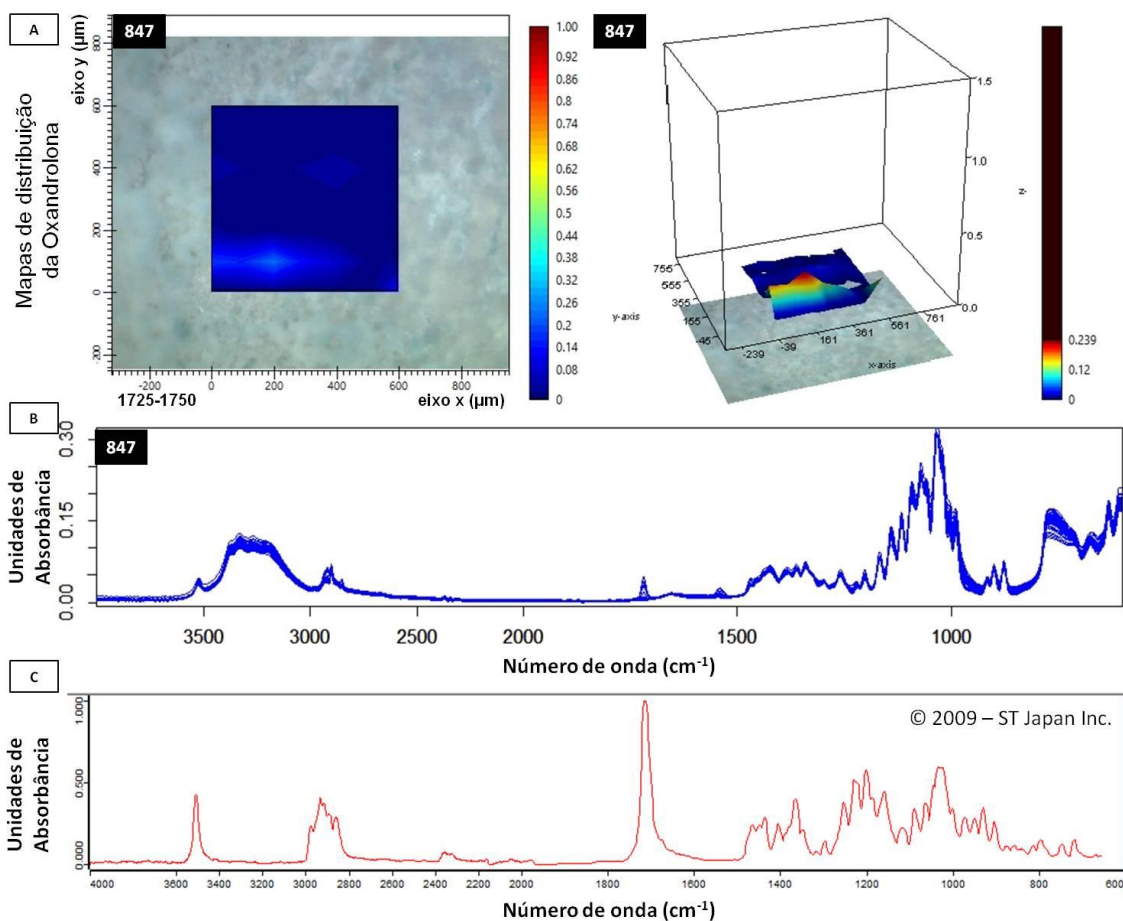


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 839. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: mesterolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: nenhum. Entretanto, note que existem espectros com bandas correspondentes à mesterolona, assim como os mapas de distribuição indicam regiões nas quais a banda característica dessa substância apresentou sinal relativamente alto, indicando a possível presença da mesterolona nessas áreas. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da mesterolona, compreendida entre 1710 e 1695  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância mesterolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).

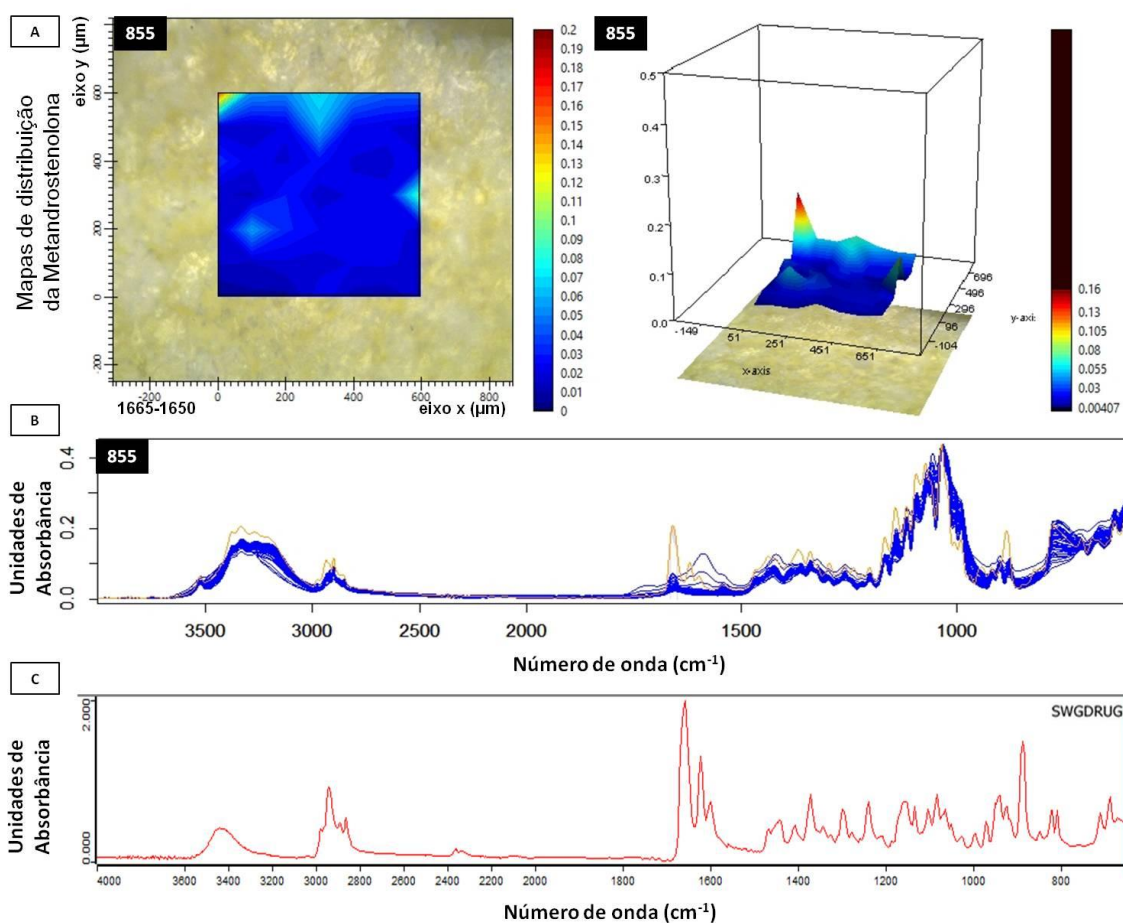


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 843. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oximetolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oximetolona, compreendida entre 1625 e 1610  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oximetolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 – © 2009 STJapan Inc.*).

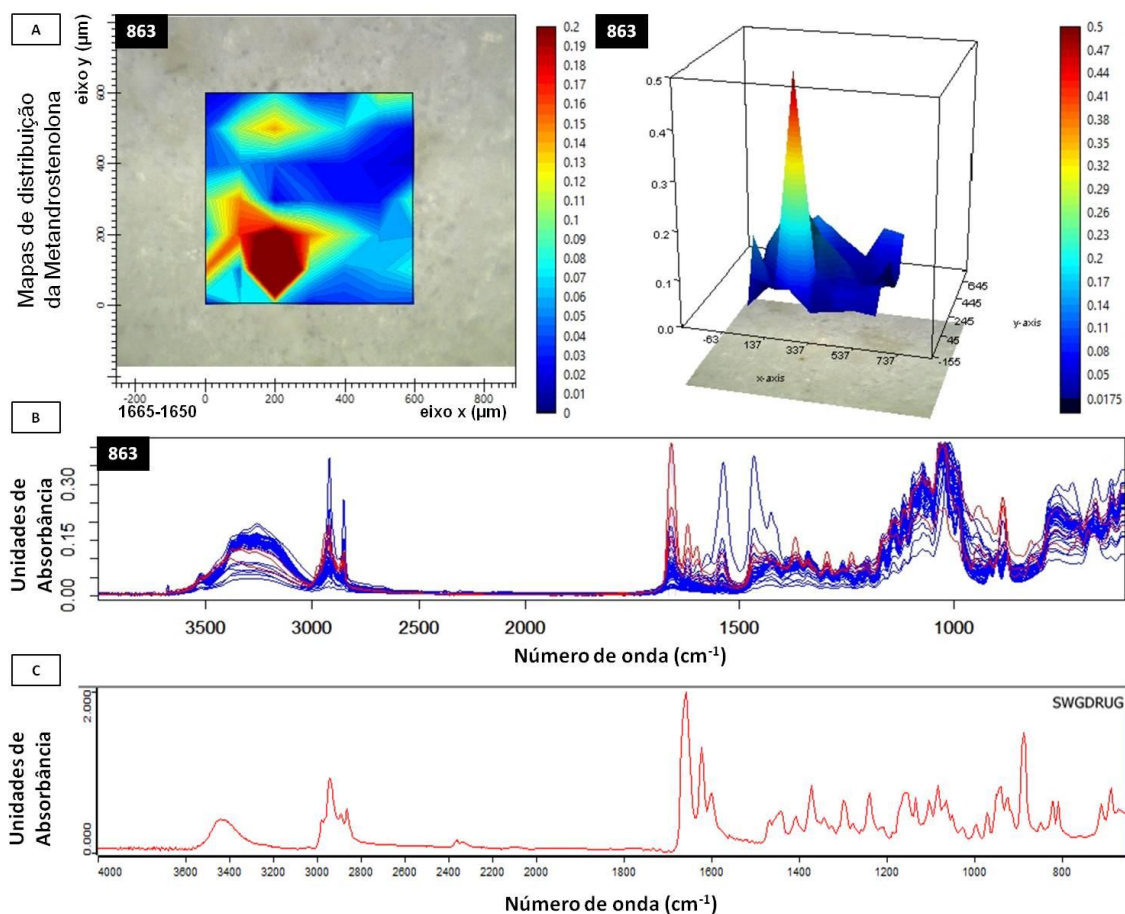




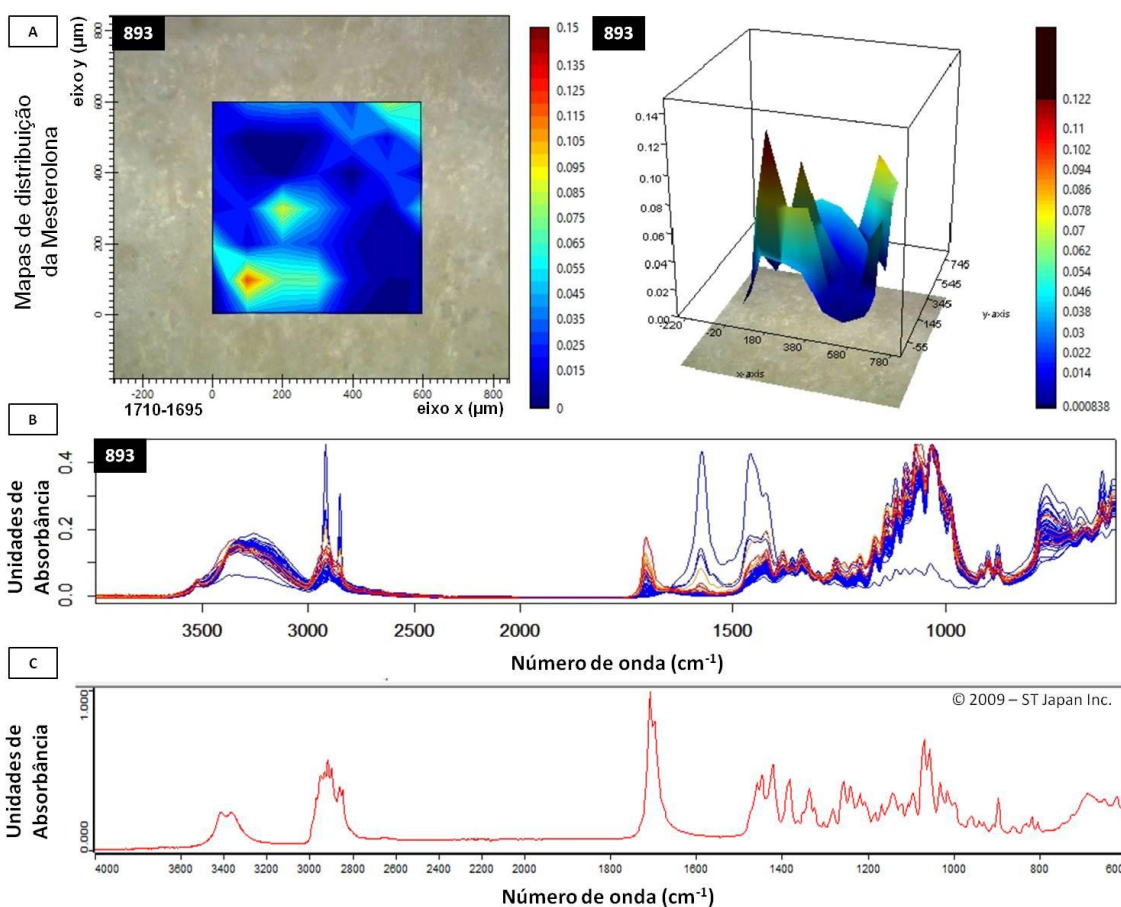
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 847. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. Entretanto, note que existem espectros com bandas correspondentes à oxandrolona, assim como o mapa de distribuição 3D indica uma região na qual a banda característica dessa substância apresentou sinal relativamente alto, indicando a possível presença da oxandrolona nessa área. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oxandrolona, compreendida entre 1725-1750 cm<sup>-1</sup>. **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oxandrolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).



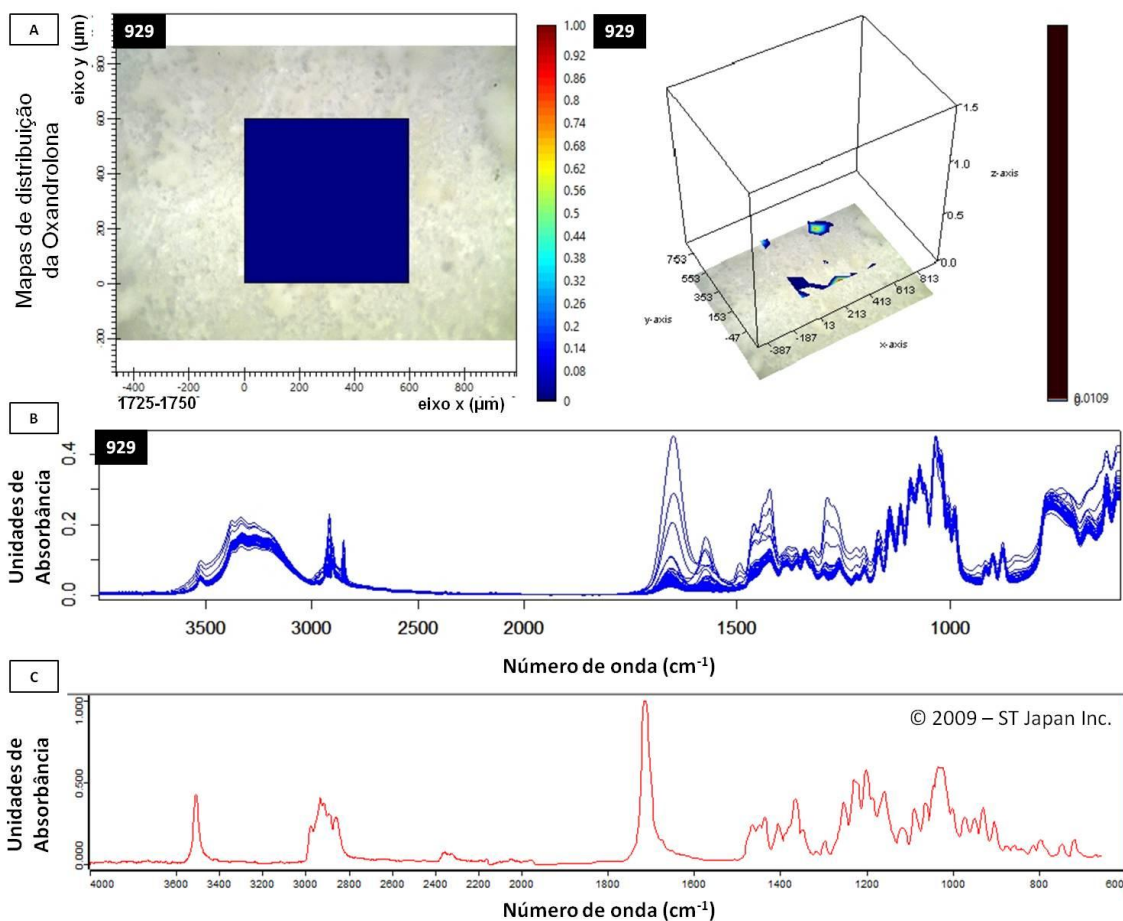
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 855. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu\text{ATR-FTIR}$ : metandrostenolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca *SWGDRUG* 2019-02-08).



Resultados do método univariado para a amostra codificada como 863. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu\text{ATR-FTIR}$ : metandrostenolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da metandrostenolona, compreendida entre 1665 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância metandrostenolona (Espectroteca SWGDRUG 2019-02-08).

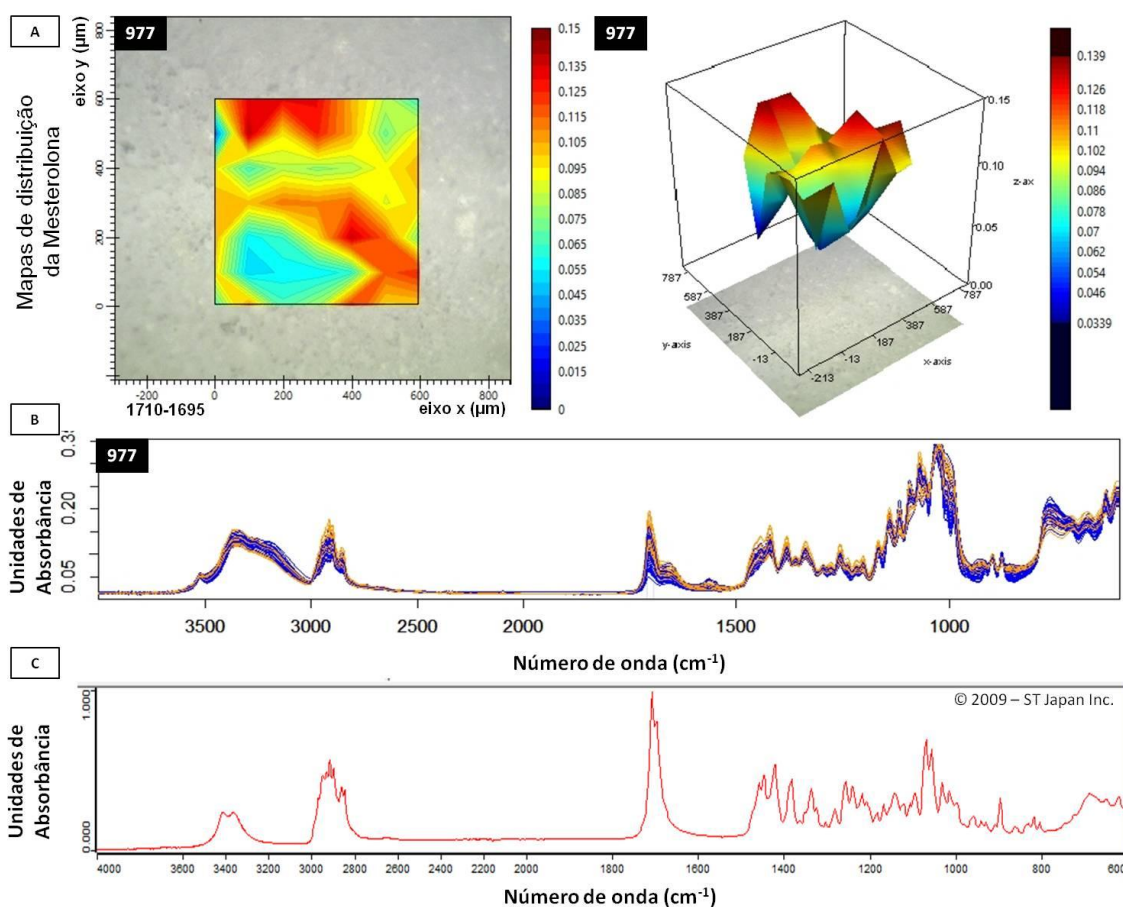


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 893. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: mesterolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: mesterolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da mesterolona, compreendida entre 1710 e 1695  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância mesterolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).



Resultados do método univariado para a amostra codificada como 929. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: nenhum. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da oxandrolona, compreendida entre 1725-1750  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância oxandrolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).



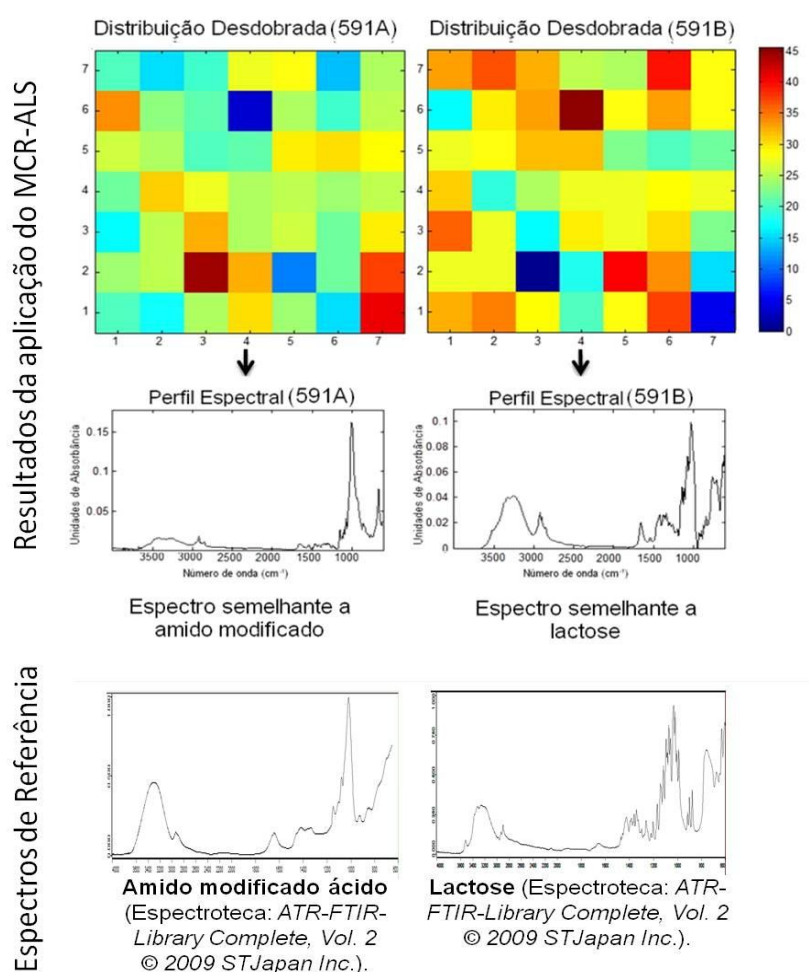


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 977. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: mesterolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: mesterolona. **A.** Mapas de distribuição 2D e 3D obtidos através de integração da banda característica da mesterolona, compreendida entre 1710 e 1695  $\text{cm}^{-1}$ . **B.** Espectros resultantes da análise da amostra. **C.** Espectro de referência da substância mesterolona (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.).

## APÊNDICE B

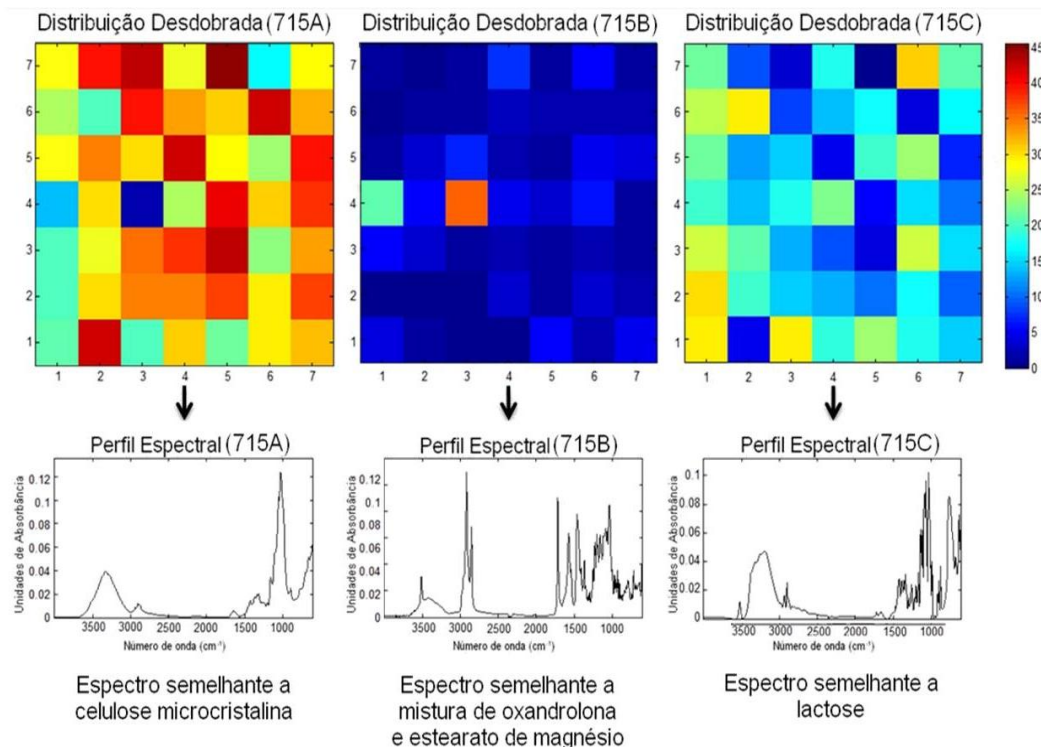
### MAPAS DE DISTRIBUIÇÃO – MÉTODO MULTIVARIADO

São apresentados os mapas de distribuição de princípios ativos e excipientes em comprimidos de esteroides anabolizantes questionados, construídos a partir das técnicas de  $\mu$ ATR-FTIR e MCR-ALS. Abaixo dos espectros, apresentamos as prováveis substâncias identificadas. Para obter detalhes da metodologia utilizada, vide páginas 57 a 61 dessa dissertação.

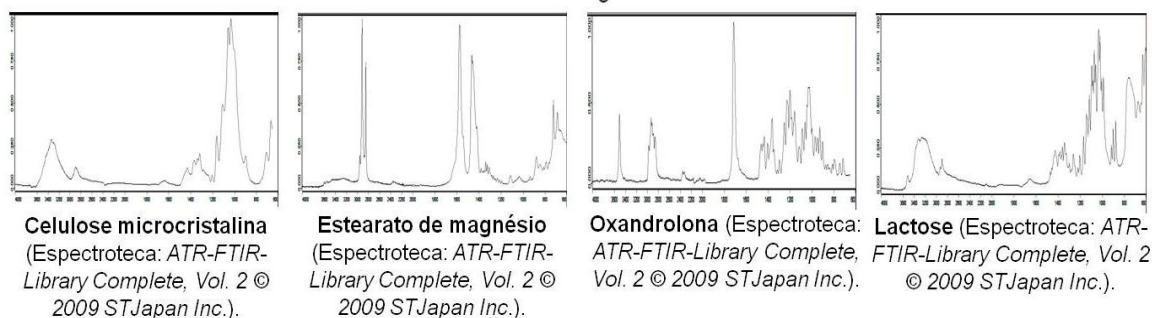


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 591. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: nenhum. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

Resultados da aplicação do MCR-ALS



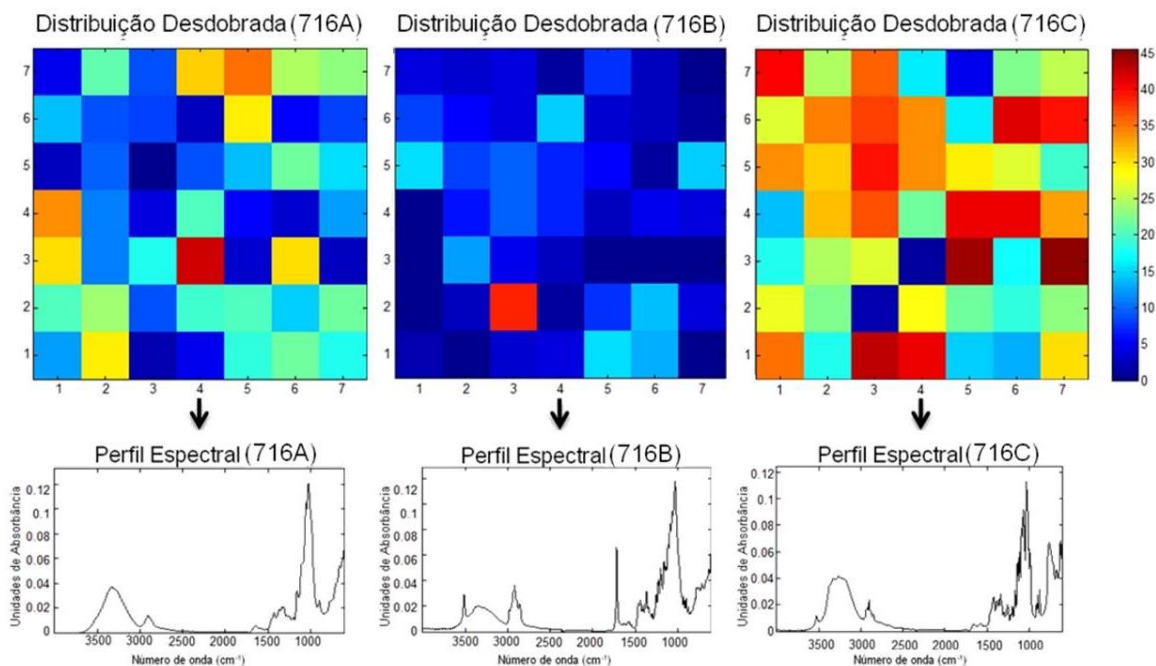
Espectros de Referência



Resultados do método univariado para a amostra codificada como 715. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.



Resultados da aplicação do MCR-ALS

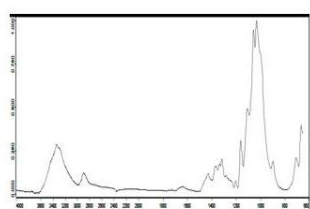


Espectro semelhante a  
celulose microcristalina

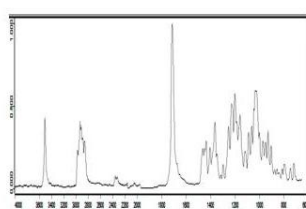
Espectro semelhante a  
mistura de oxandrolona e  
celulose microcristalina

Espectro semelhante a  
lactose

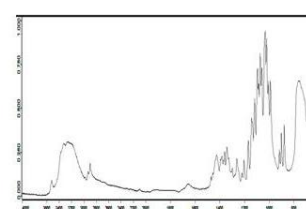
Espectros de Referência



**Celulose microcristalina**  
(Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* © 2009 STJapan Inc.).



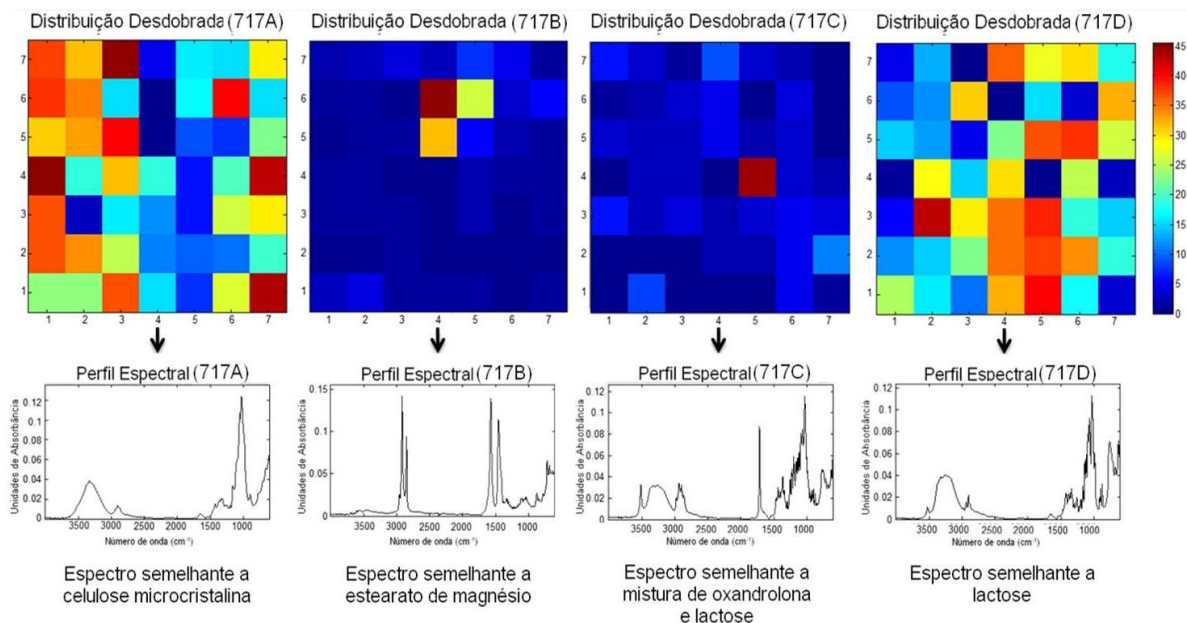
**Oxandrolona** (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* © 2009 STJapan Inc.).



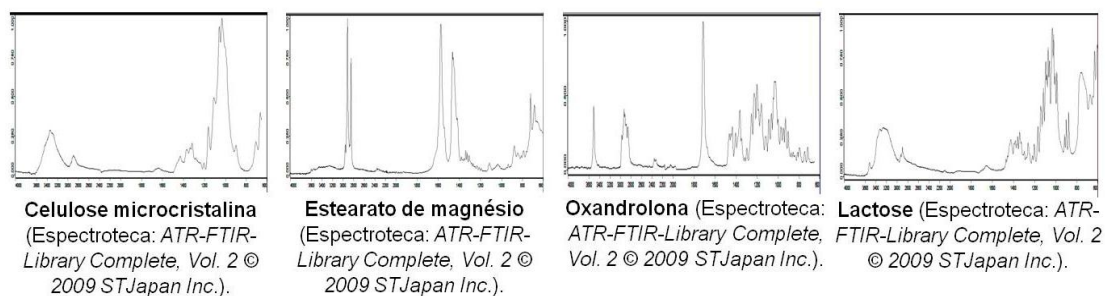
**Lactose** (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* © 2009 STJapan Inc.).

Resultados do método univariado para a amostra codificada como 716. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

Resultados da aplicação do MCR-ALS

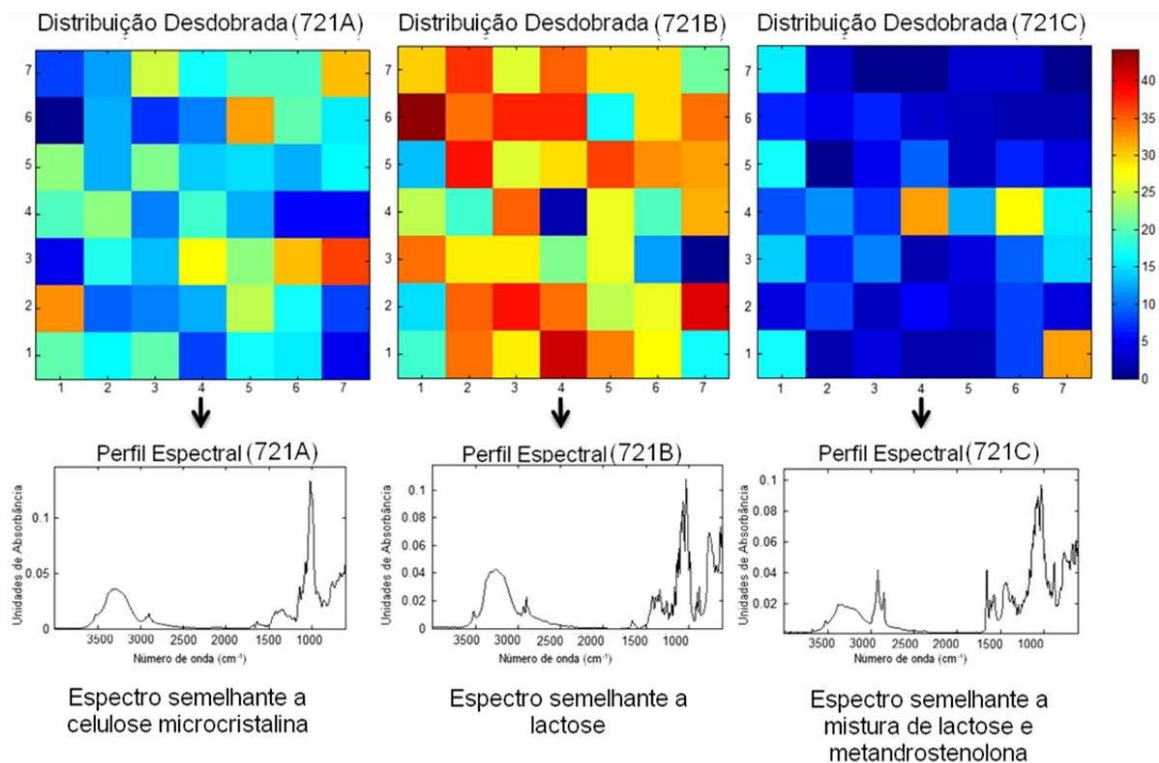


Espectros de Referência

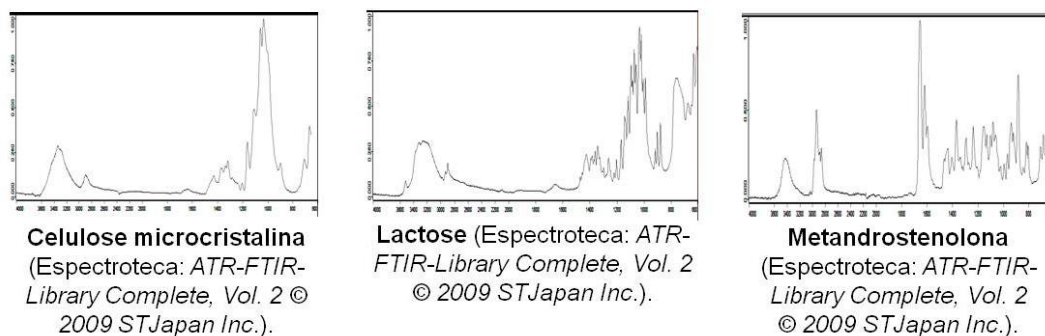


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 717. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 – © 2009 STJapan Inc.*

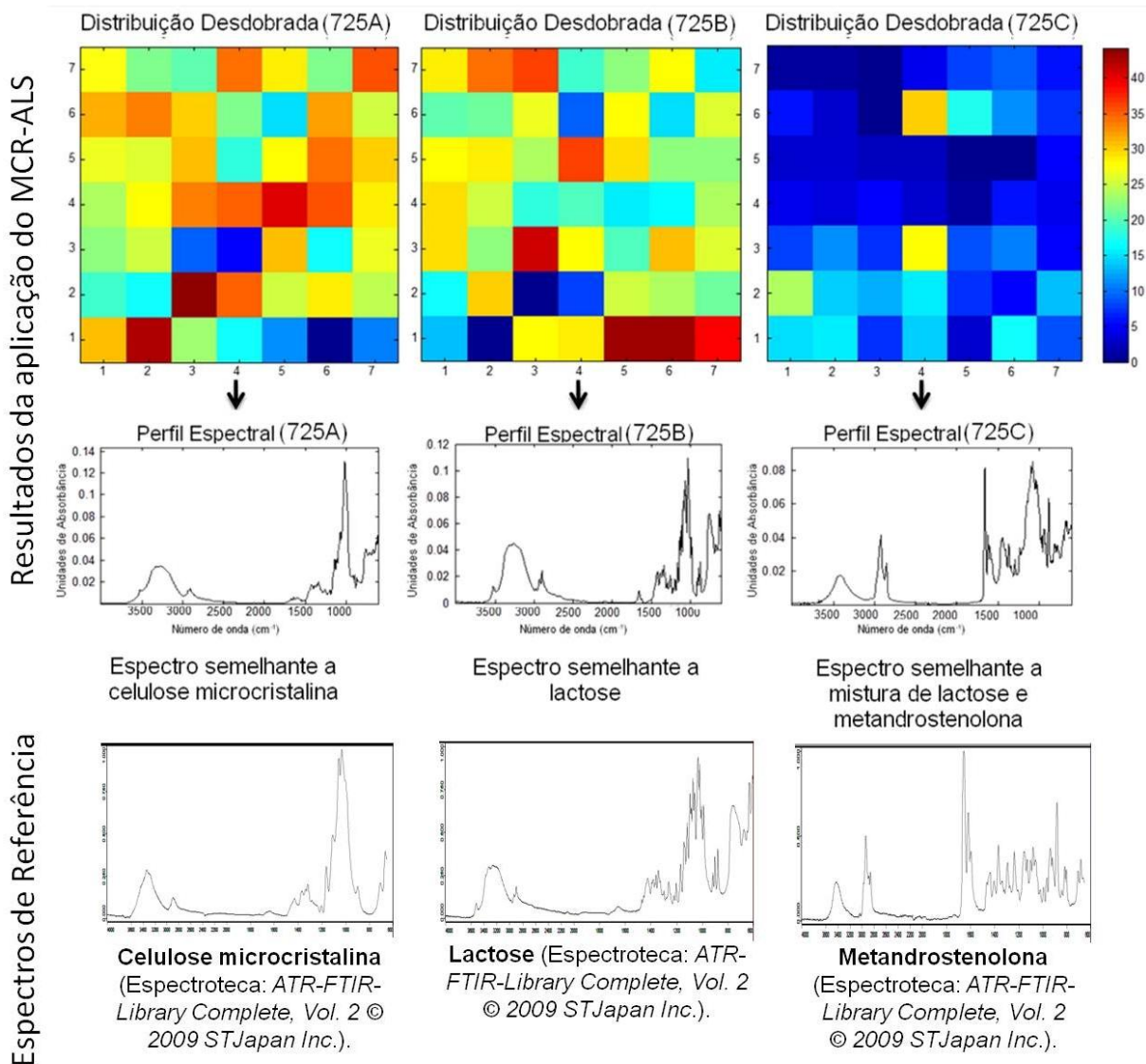
Resultados da aplicação do MCR-ALS



Espectros de Referência

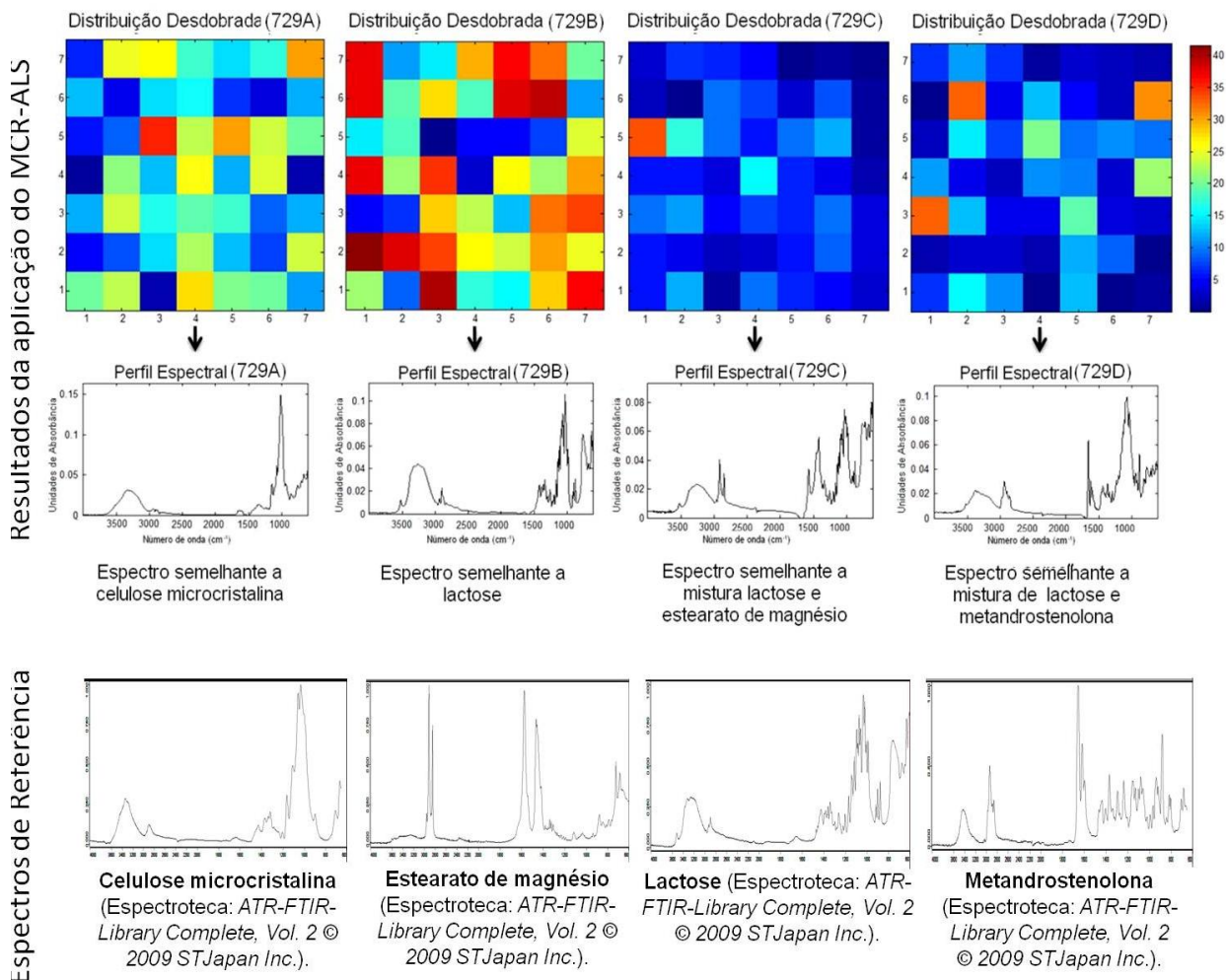


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 721. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

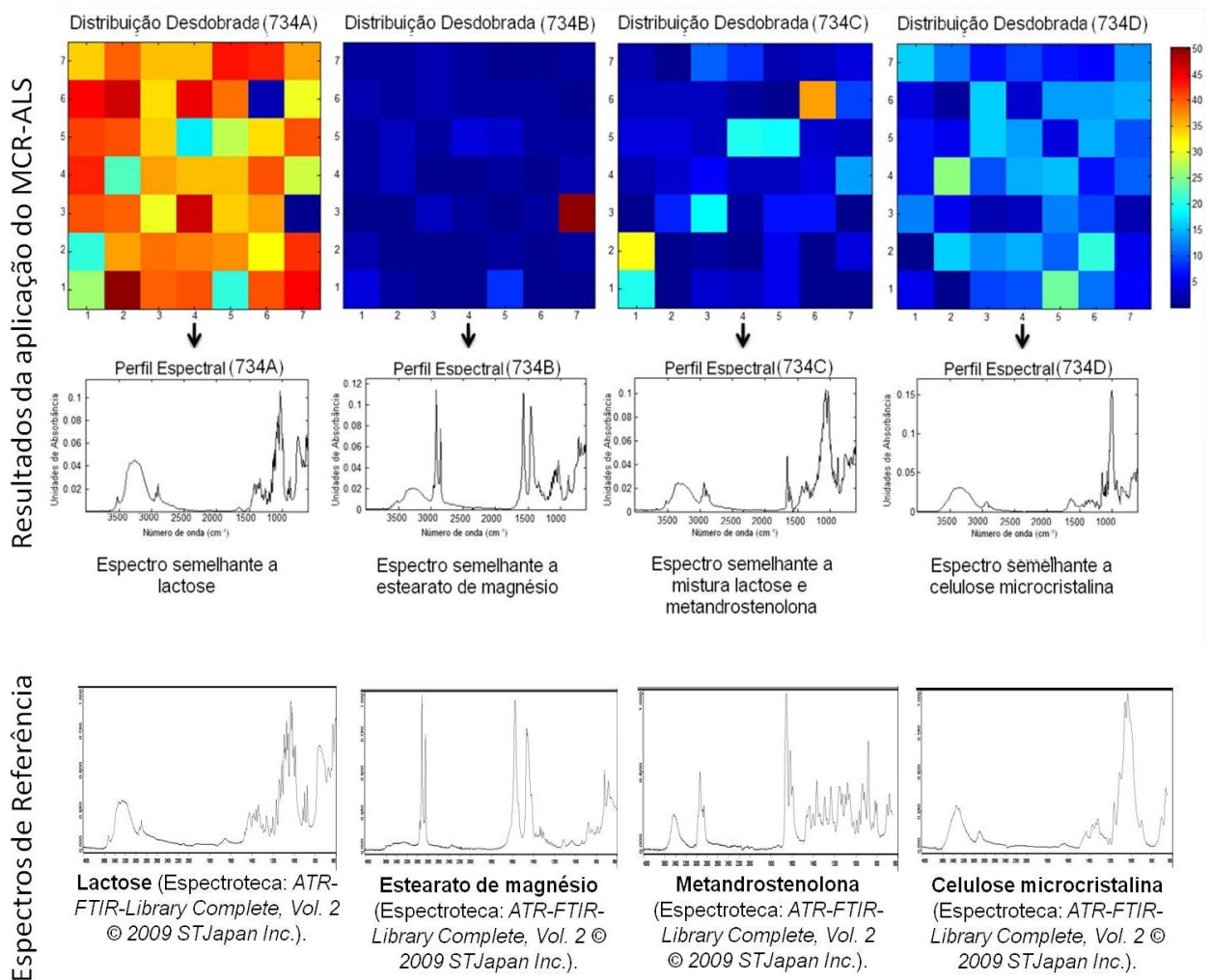


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 725. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

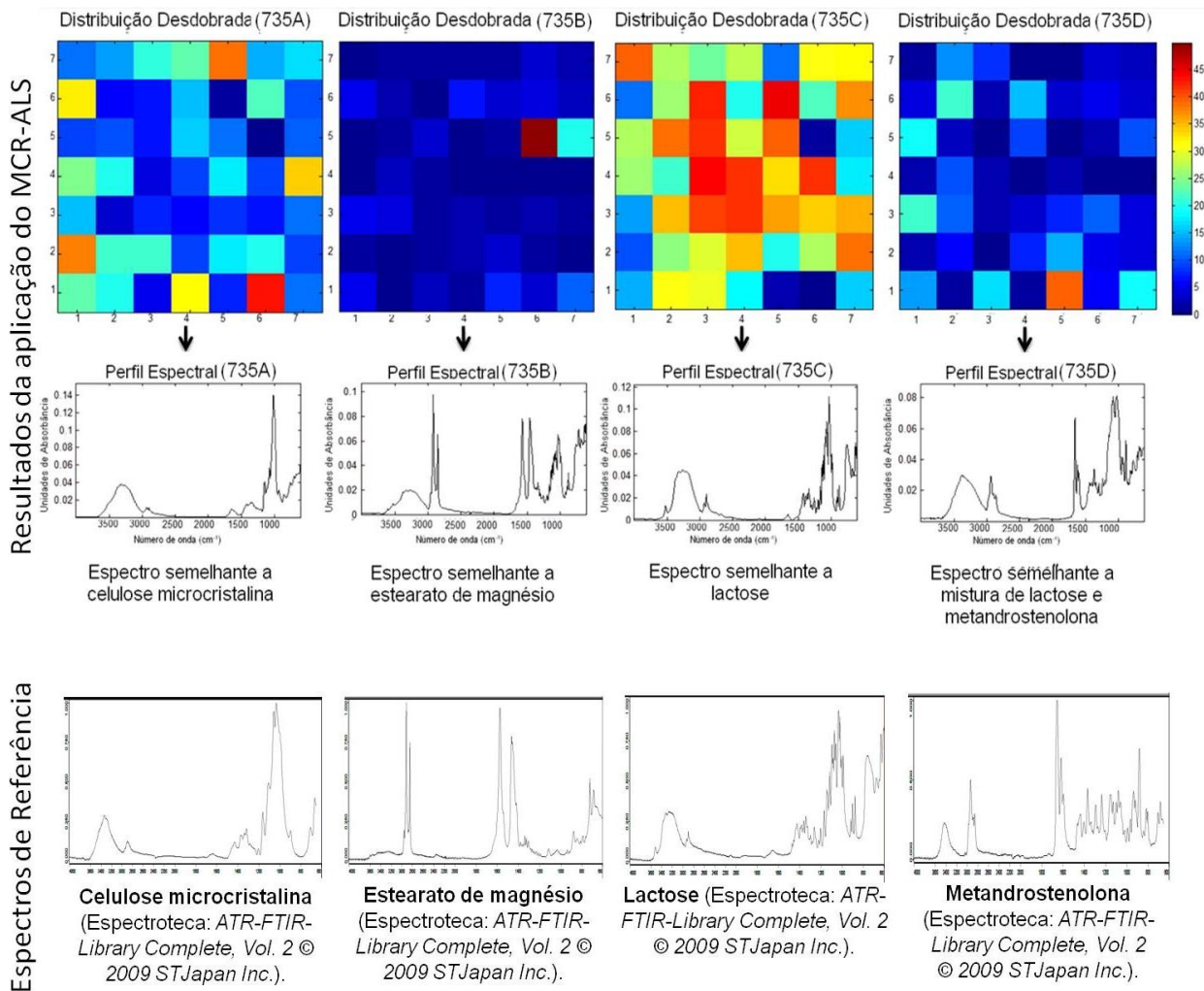




Resultados do método univariado para a amostra codificada como 729. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

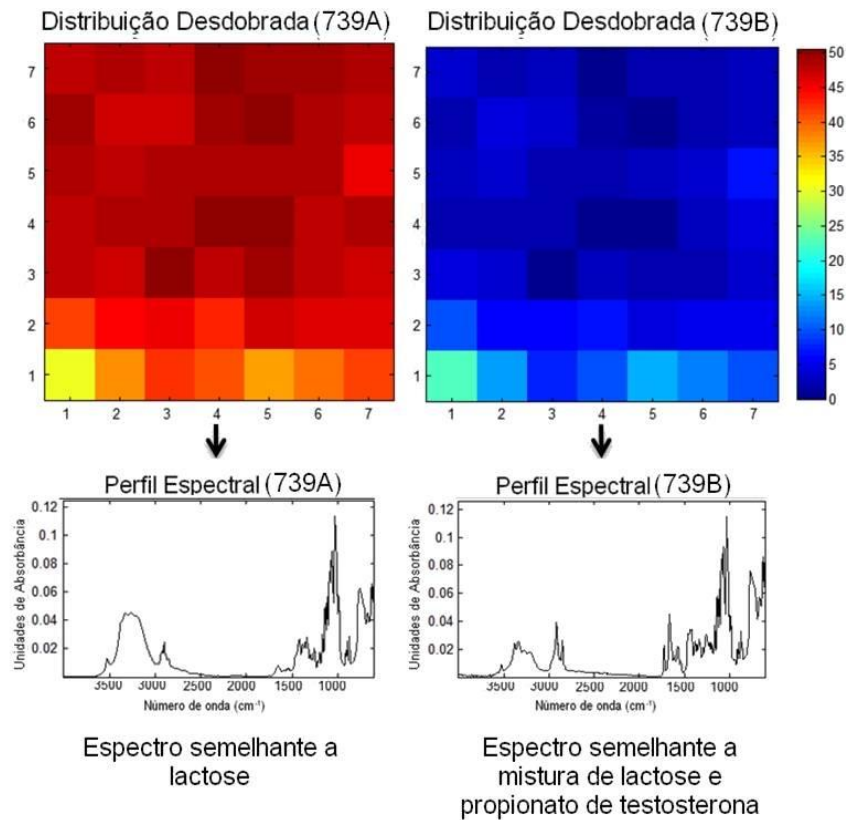


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 734. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

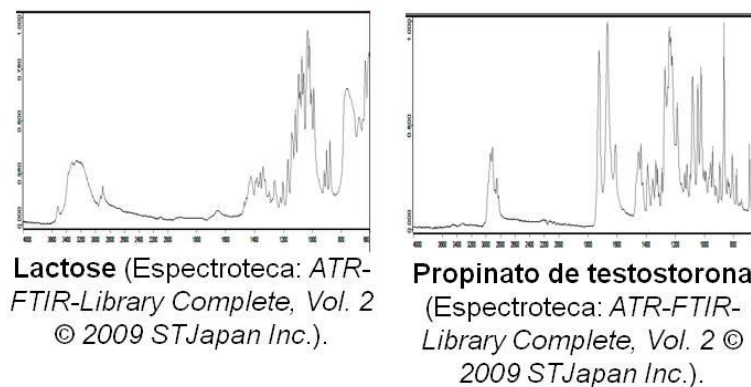


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 735. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

Resultados da aplicação do MCR-ALS



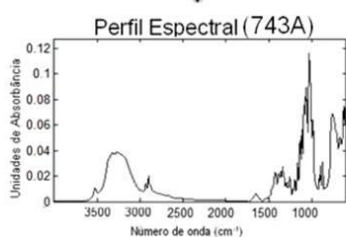
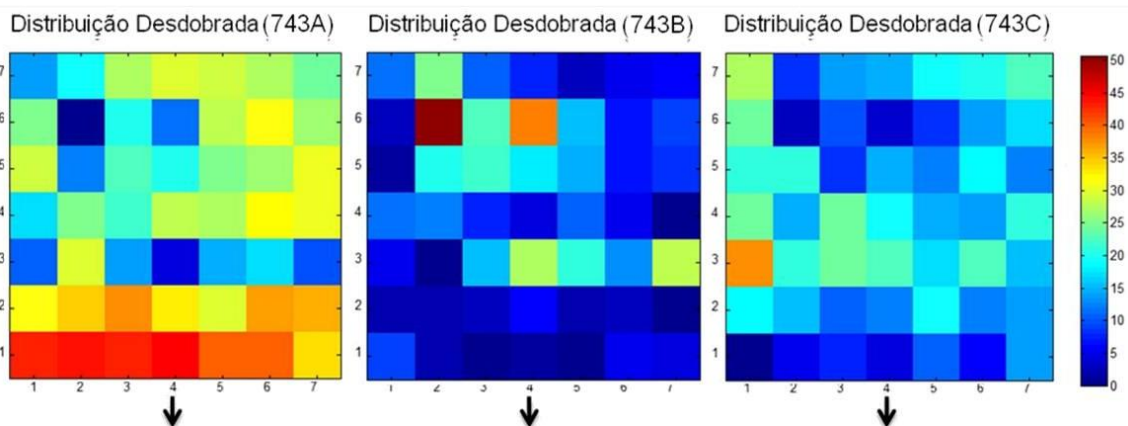
Espectros de Referência



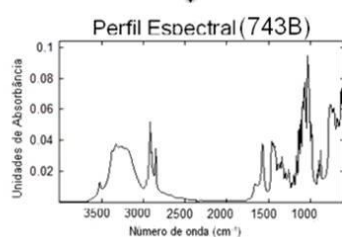
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 739. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: propionato de testosterona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.



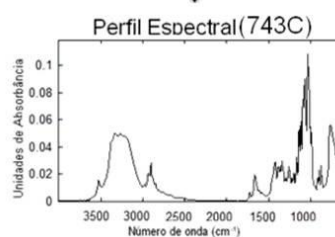
Resultados da aplicação do MCR-ALS



Espectro semelhante a lactose

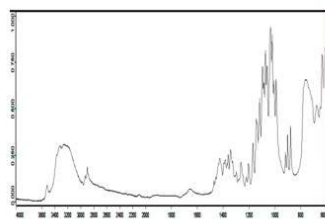


Espectro semelhante a mistura de lactose e estearato de magnésio

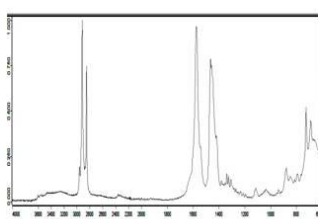


Espectro semelhante a mistura de lactose e propionato de testosterona

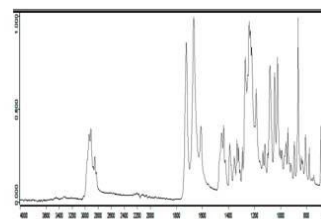
Espectros de Referência



**Lactose** (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* © 2009 STJapan Inc.).



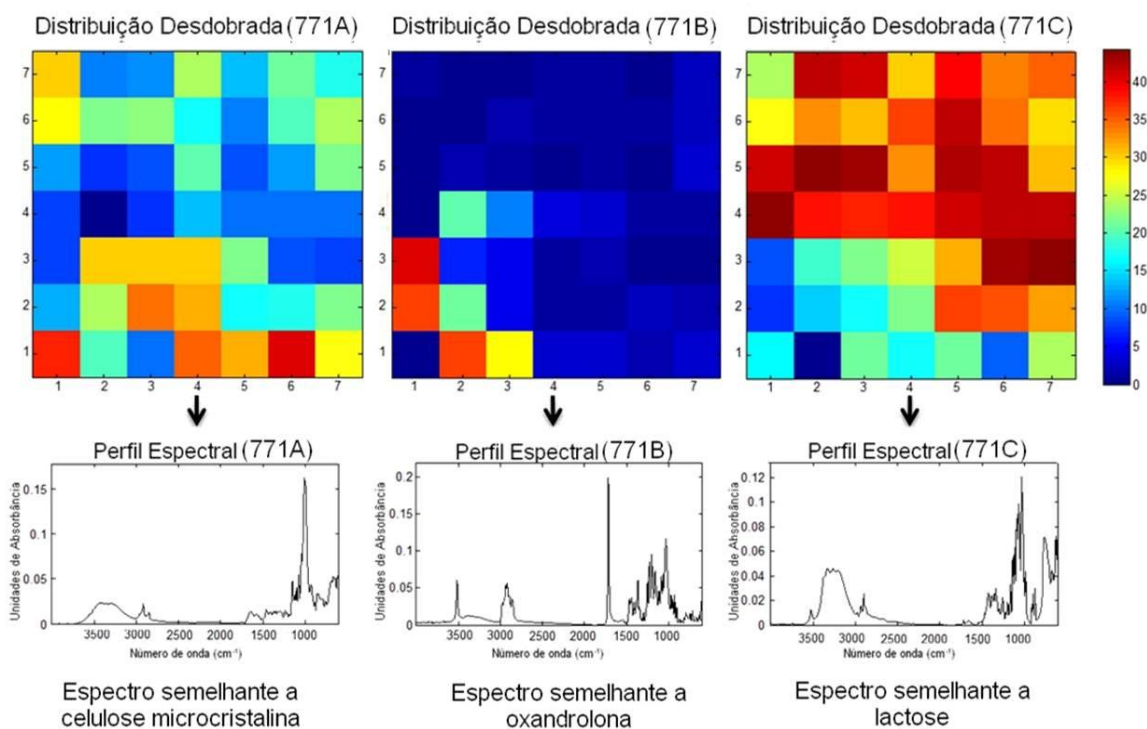
**Estearato de magnésio** (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* © 2009 STJapan Inc.).



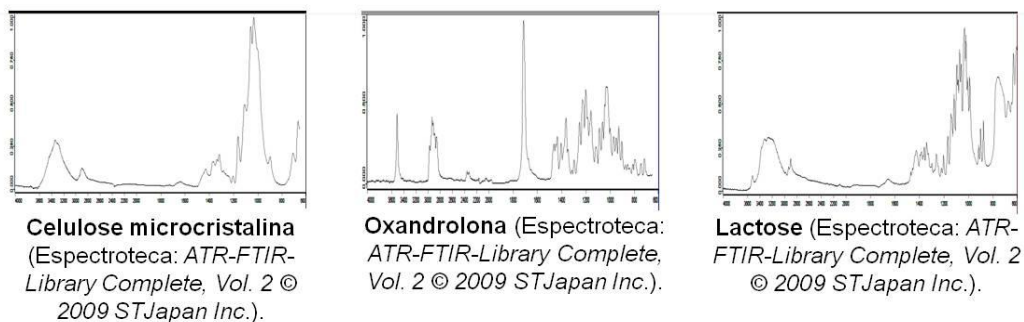
**Propionato de testosterona** (Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* © 2009 STJapan Inc.).

Resultados do método univariado para a amostra codificada como 743. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: propionato de testosterona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

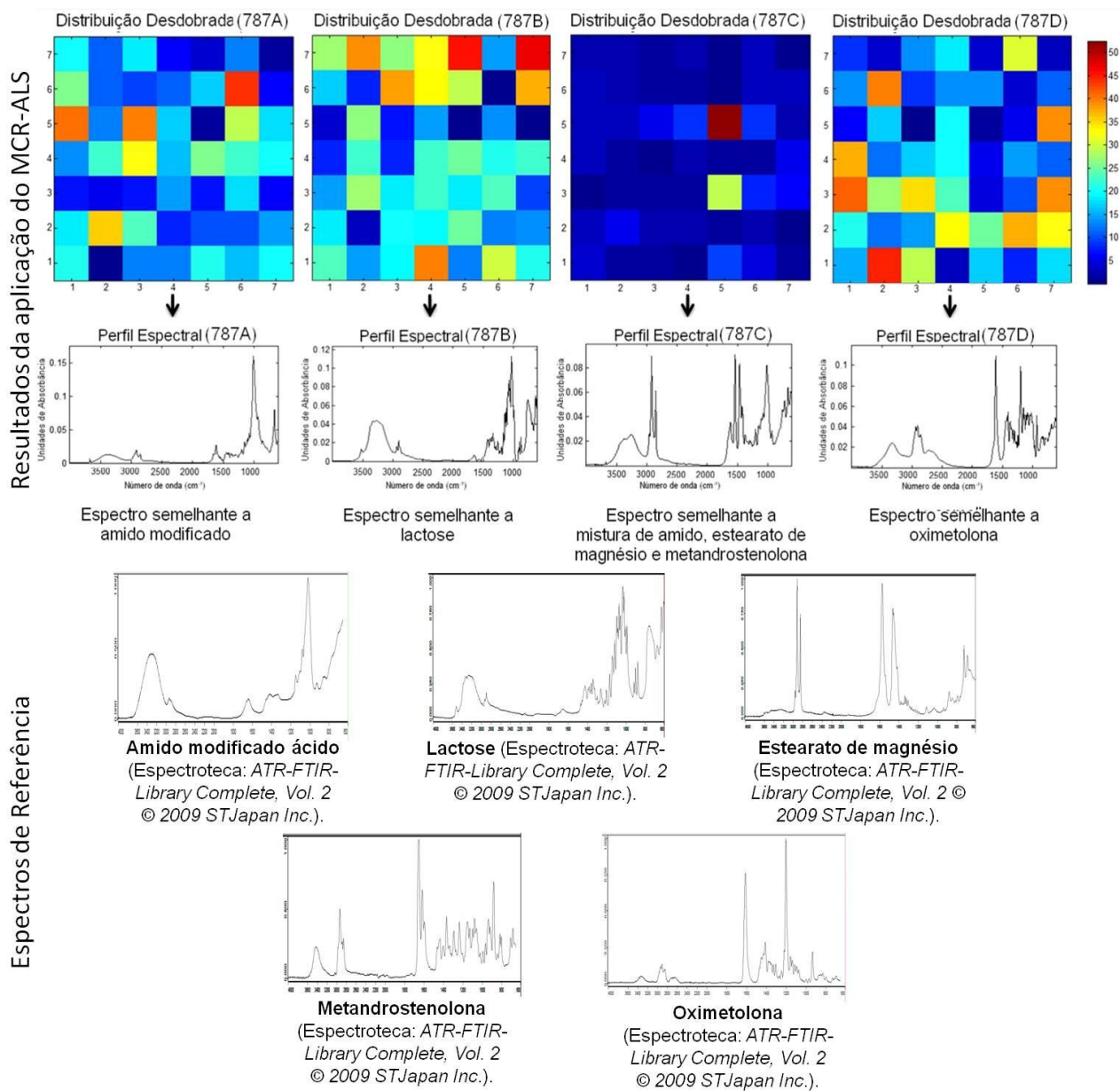
Resultados da aplicação do MCR-ALS



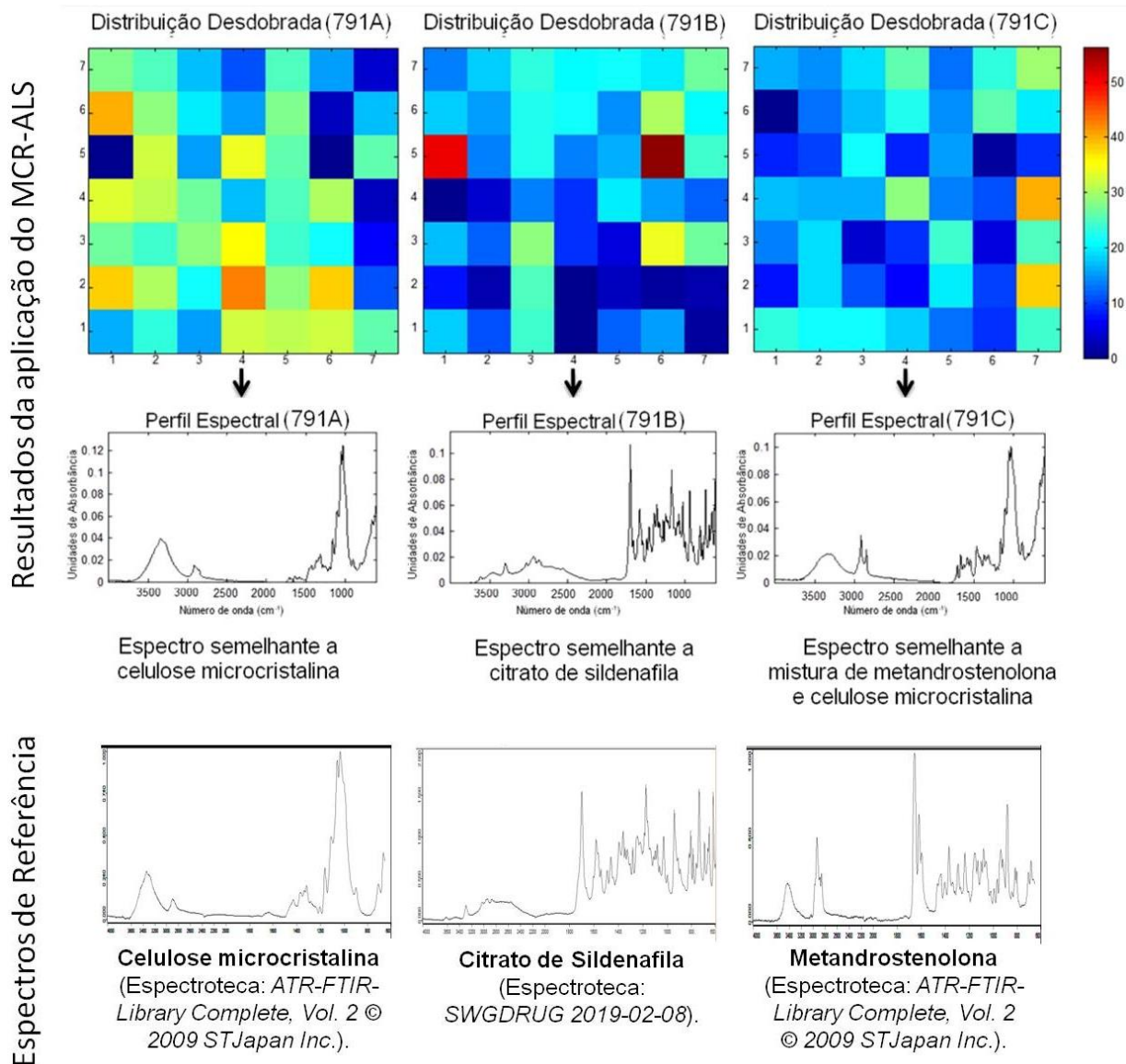
Espectros de Referência



Resultados do método univariado para a amostra codificada como 771. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

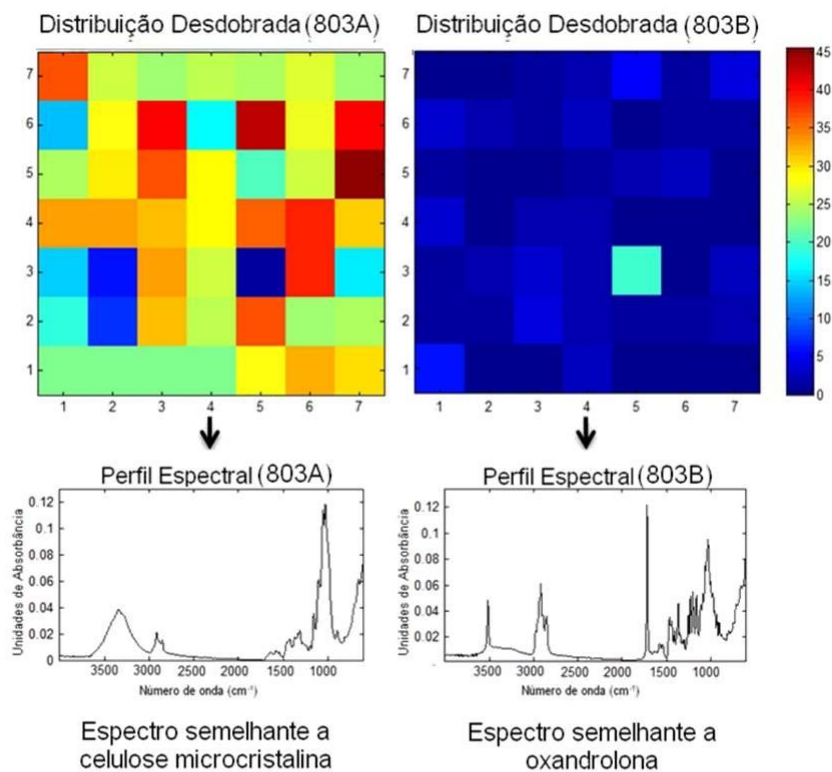


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 787. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oximetolona e metandrostenolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

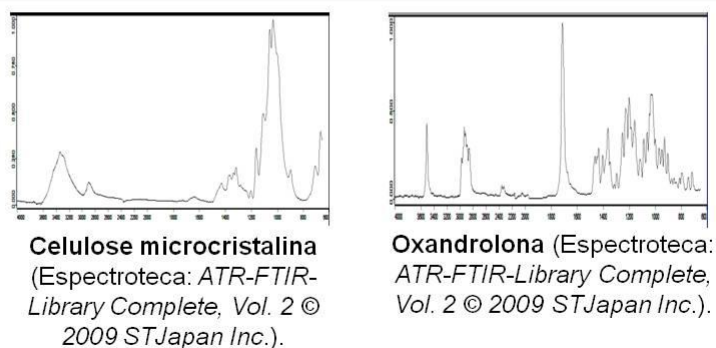


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 791. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona e citrato de sildenafil. Espectros de referência obtidos das Espectrotecas: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc e *SWGDRUG 2019-02-08*.

Resultados da aplicação do MCR-ALS



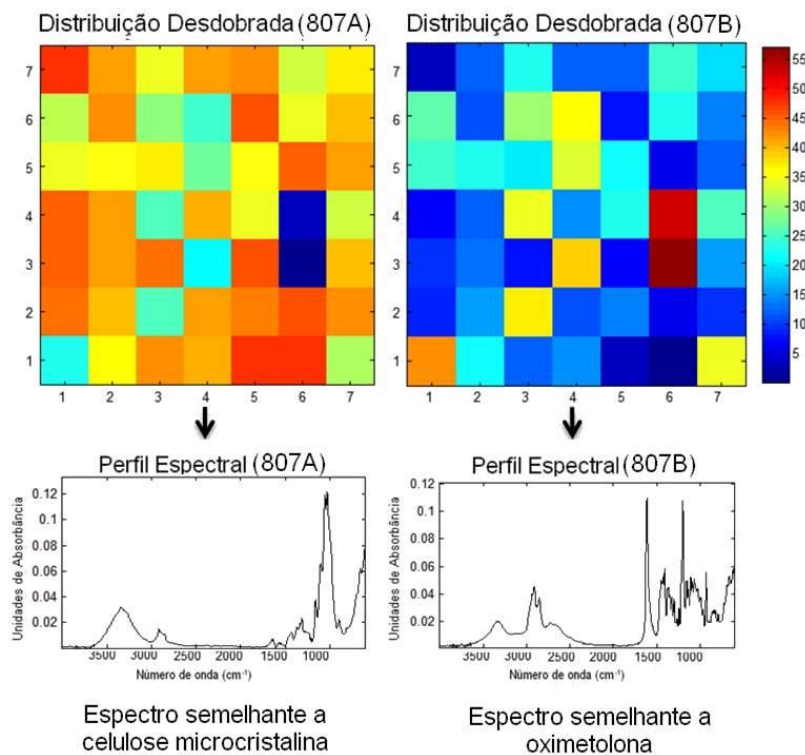
Espectros de Referência



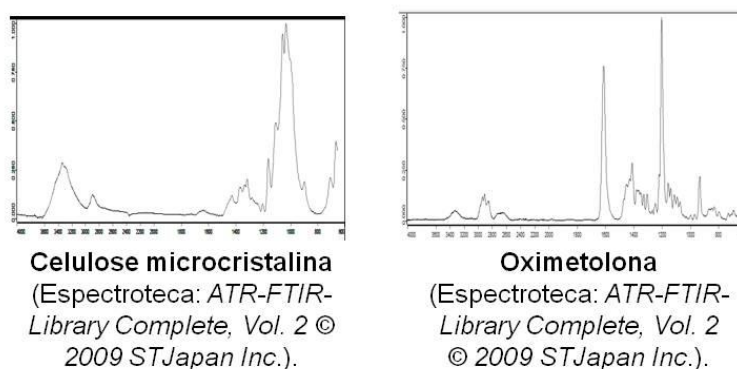
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 803. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.



Resultados da aplicação do MCR-ALS

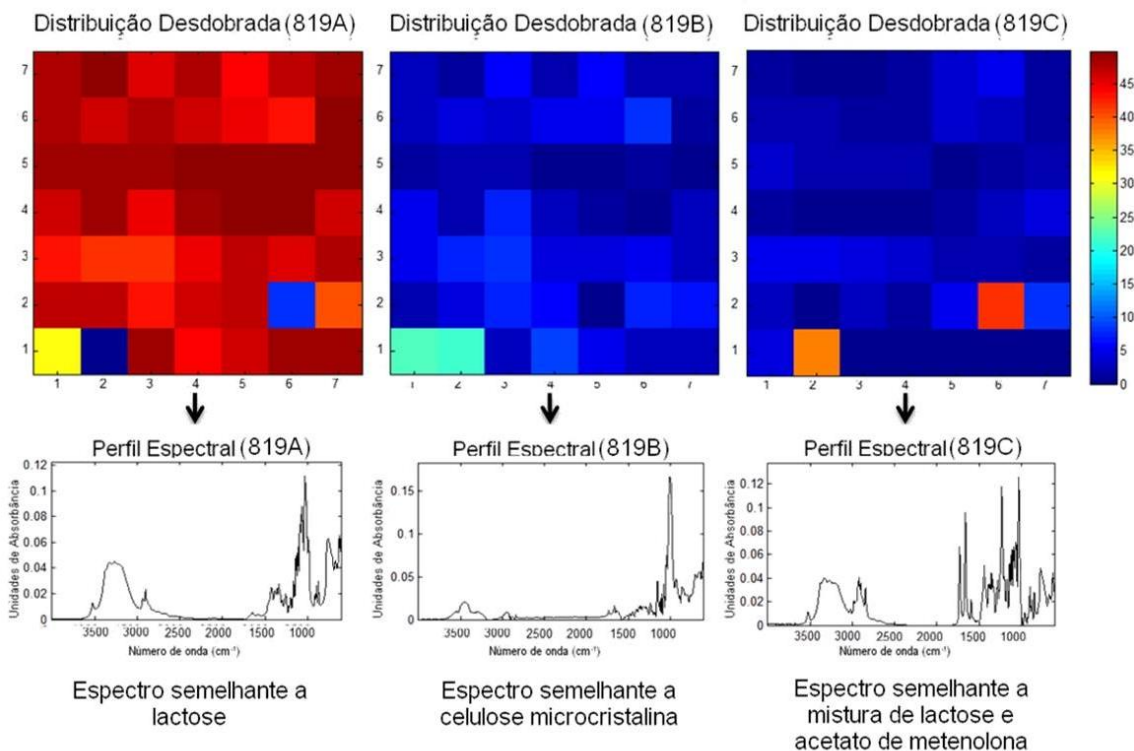


Espectros de Referência

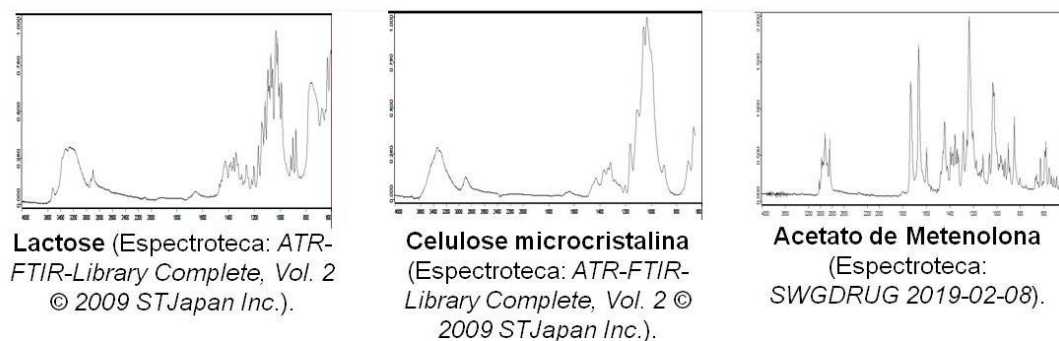


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 807. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oximetolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

Resultados da aplicação do MCR-ALS

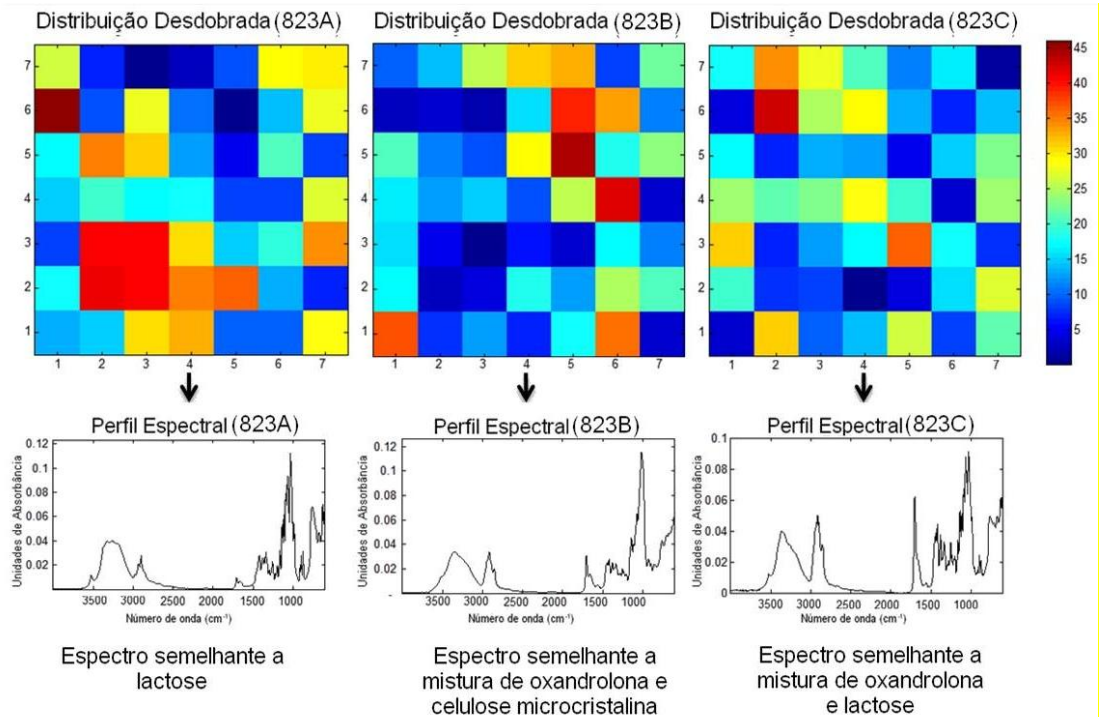


Espectros de Referência

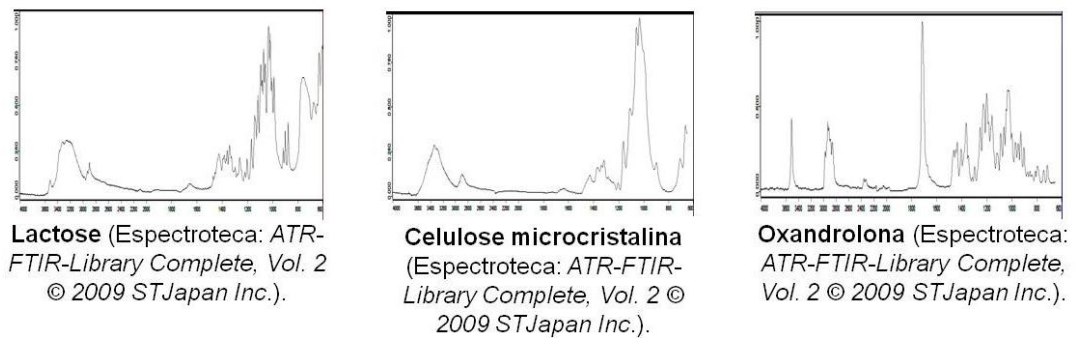


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 819. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: acetato de metenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: acetato de metenolona. Espectros de referência obtidos da Espectrootecas: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc e *SWGDRUG 2019-02-08*.

Resultados da aplicação do MCR-ALS

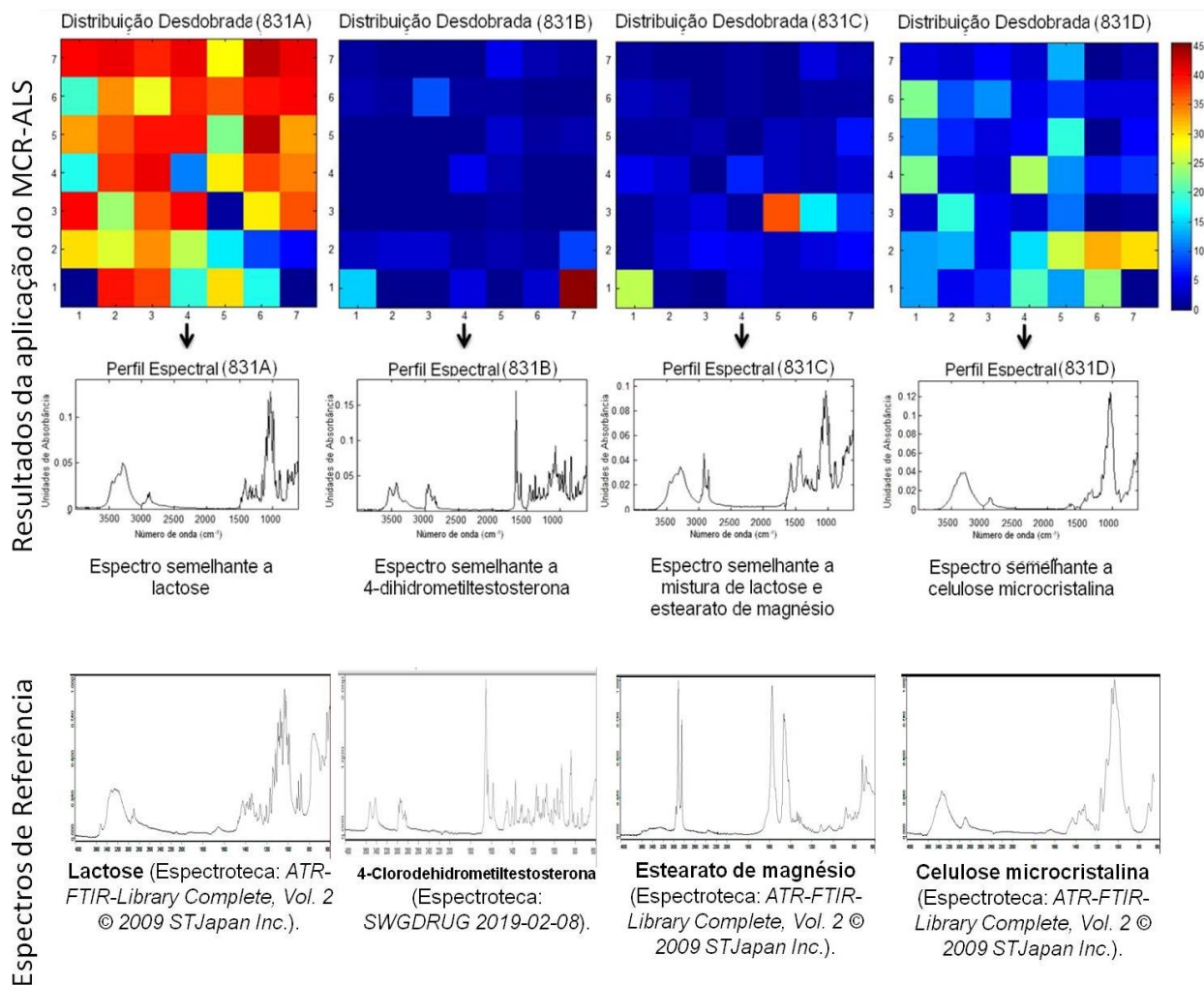


Espectros de Referência



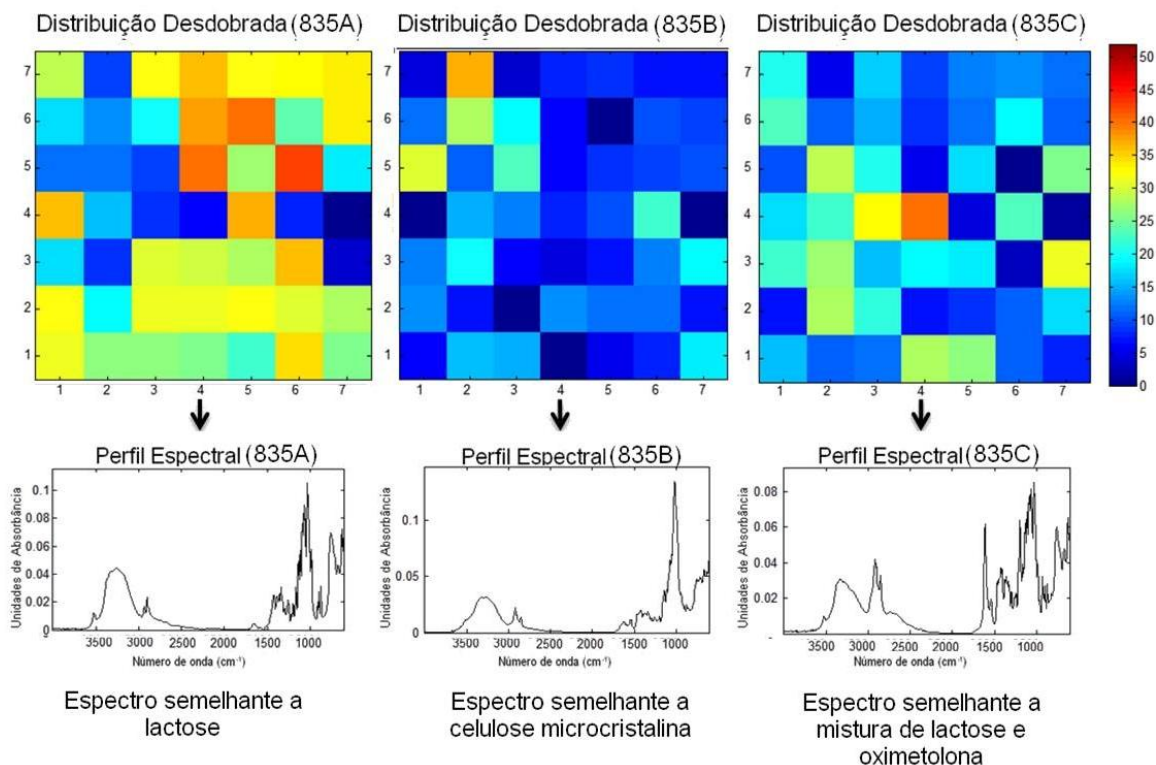
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 823. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oxandrolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.



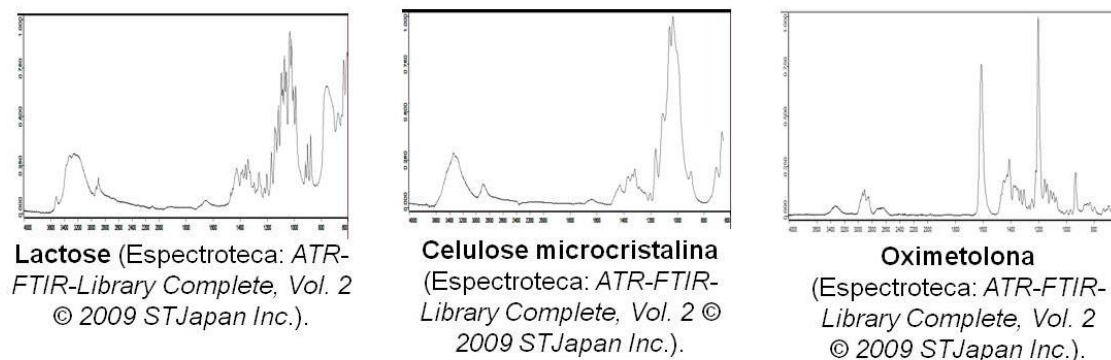


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 831. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: 4-clorodehidrometiltestosterona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: 4-clorodehidrometiltestosterona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2 – © 2009 STJapan Inc* e *SWGDRUG 2019-02-08*.

Resultados da aplicação do MCR-ALS

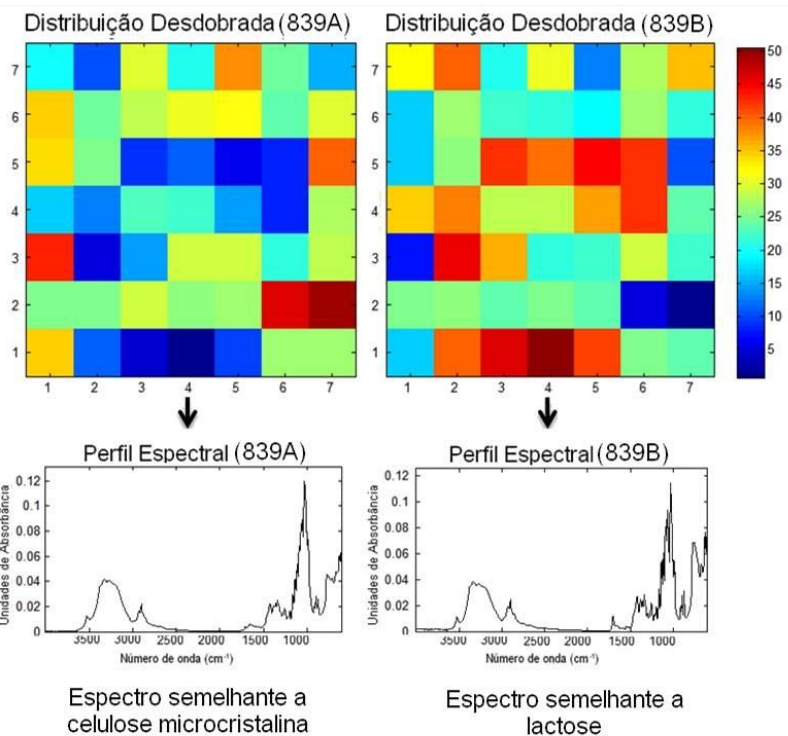


Espectros de Referência

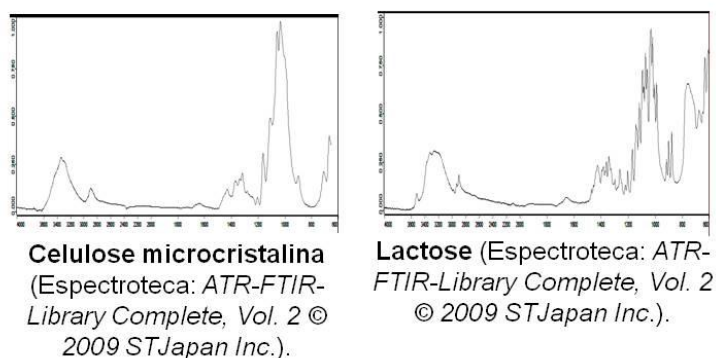


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 835. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oximetolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

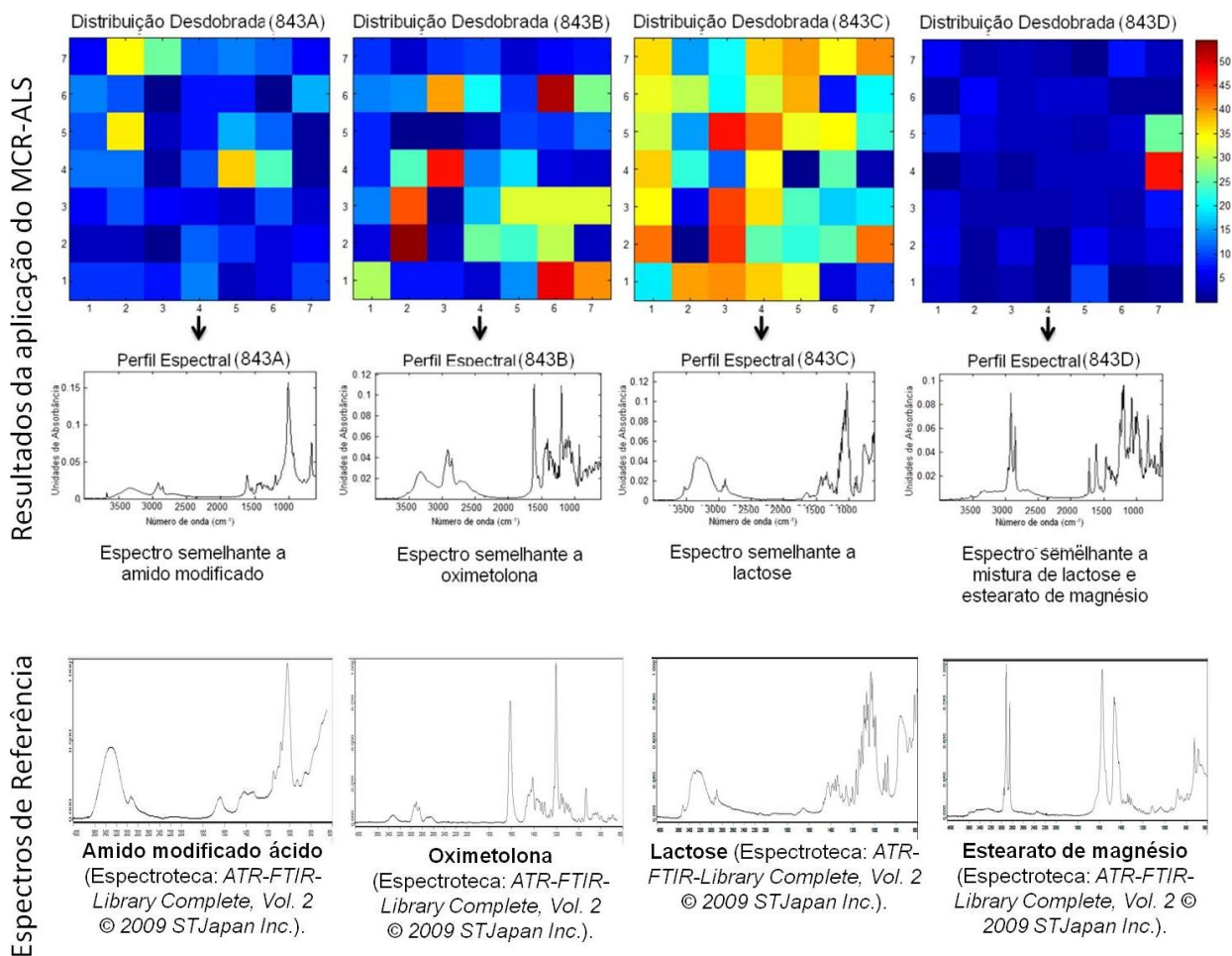
Resultados da aplicação do MCR-ALS



Espectros de Referência

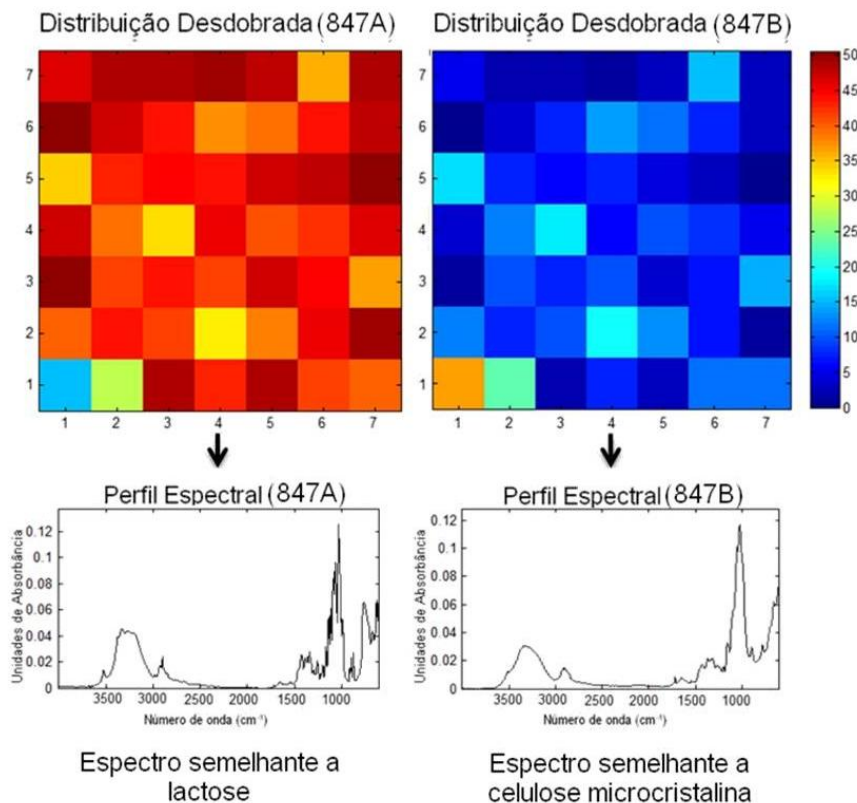


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 839. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: mesterolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: nenhum. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 *STJapan Inc.*

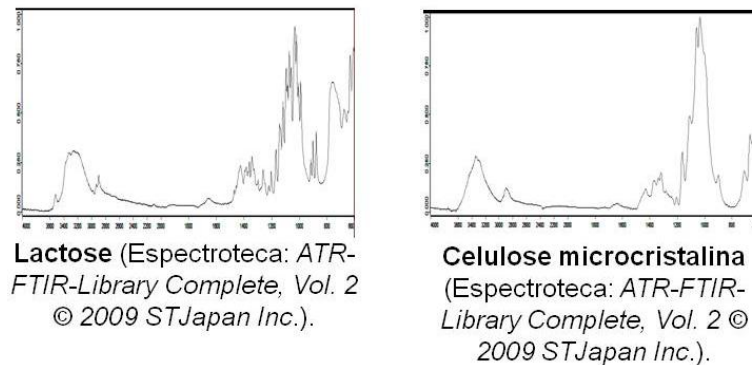


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 843. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oximetolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: oximetolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

Resultados da aplicação do MCR-ALS



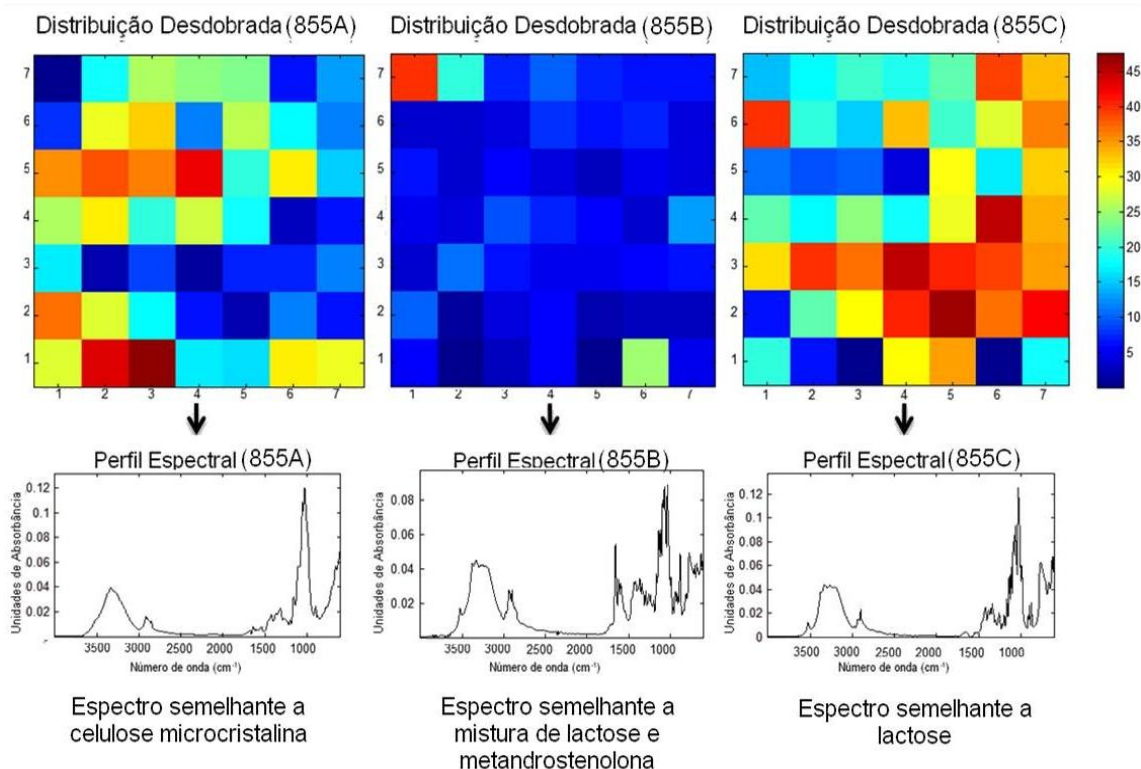
Espectros de Referência



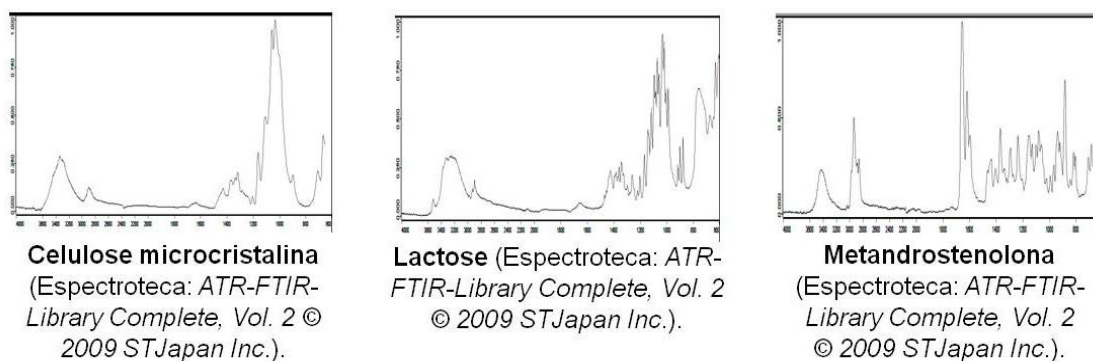
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 847. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: nenhum. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.



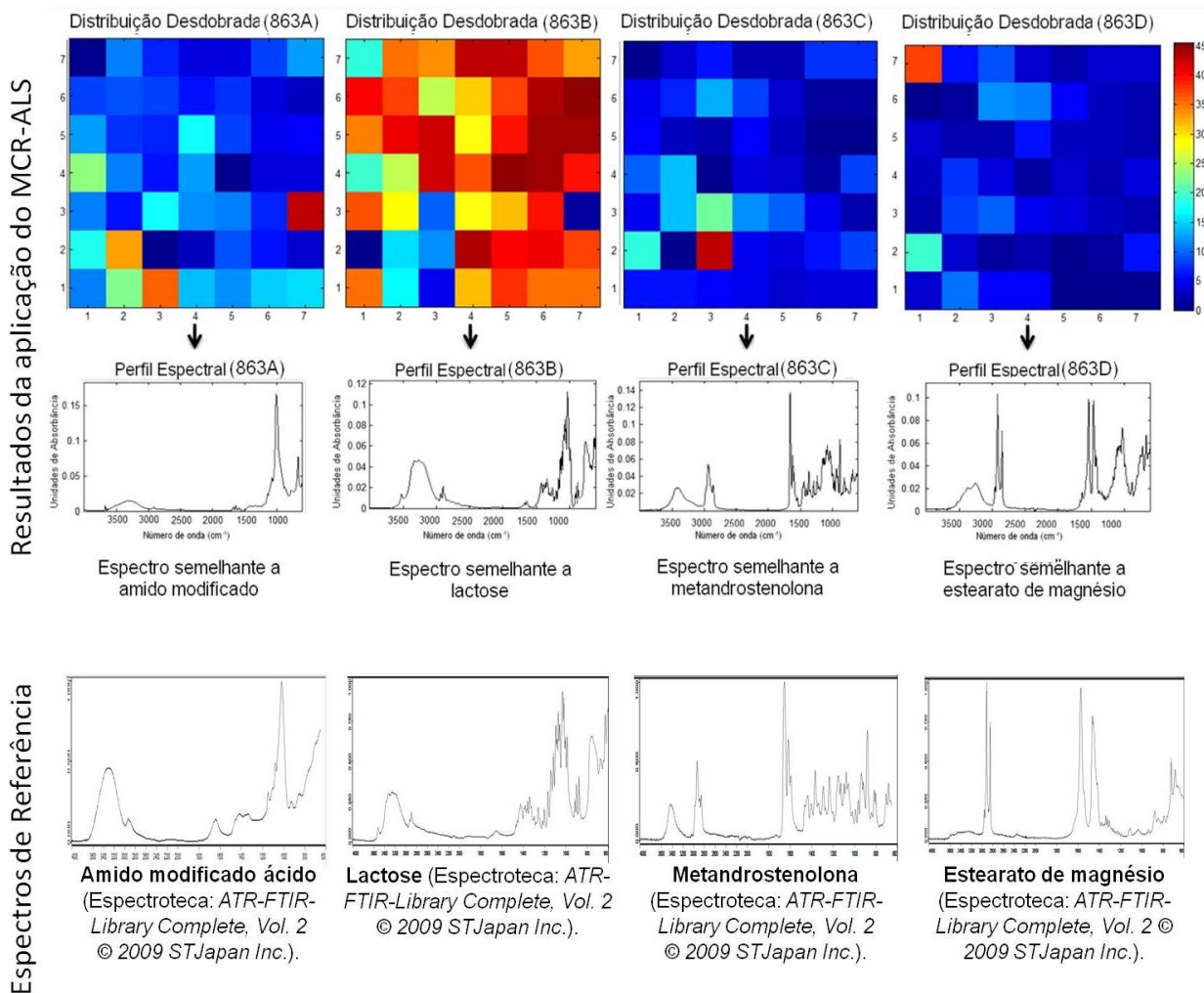
Resultados da aplicação do MCR-ALS



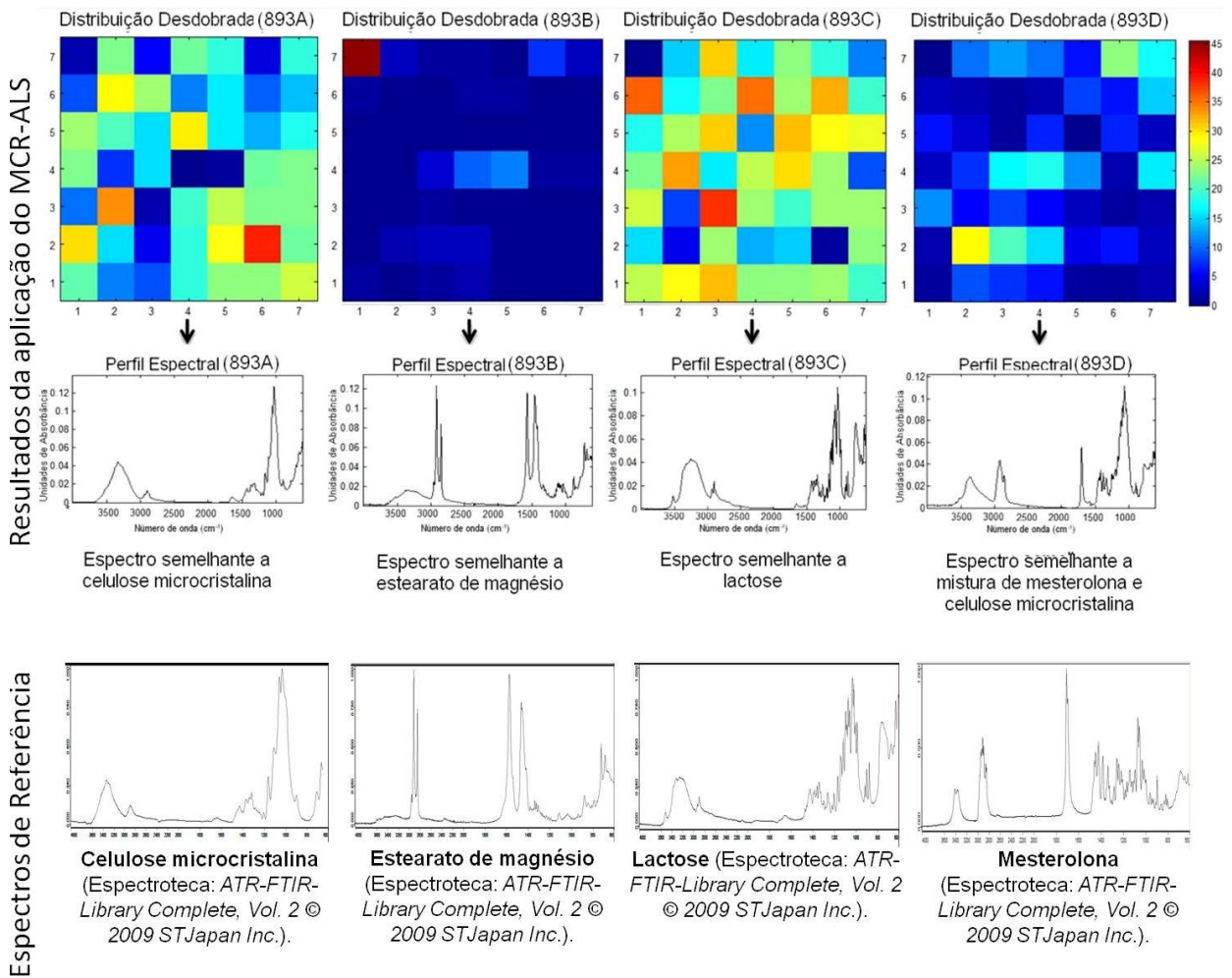
Espectros de Referência



Resultados do método univariado para a amostra codificada como 855. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.



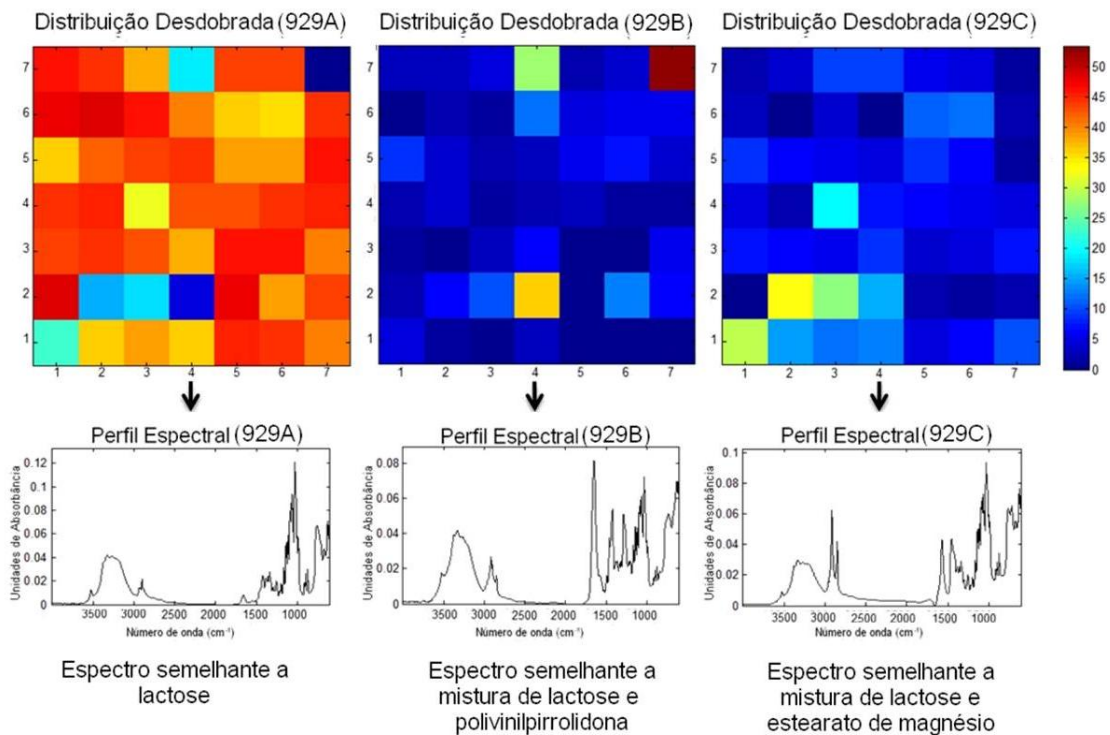
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 863. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: metandrostenolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: metandrostenolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.



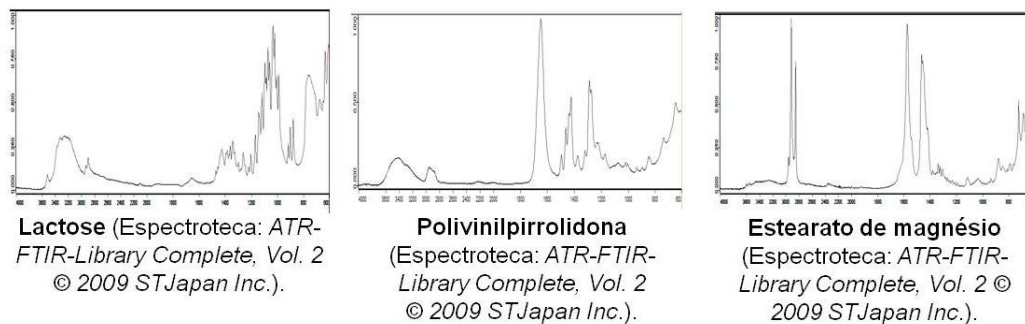
Resultados do método univariado para a amostra codificada como 893. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: mesterolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: mesterolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.



Resultados da aplicação do MCR-ALS

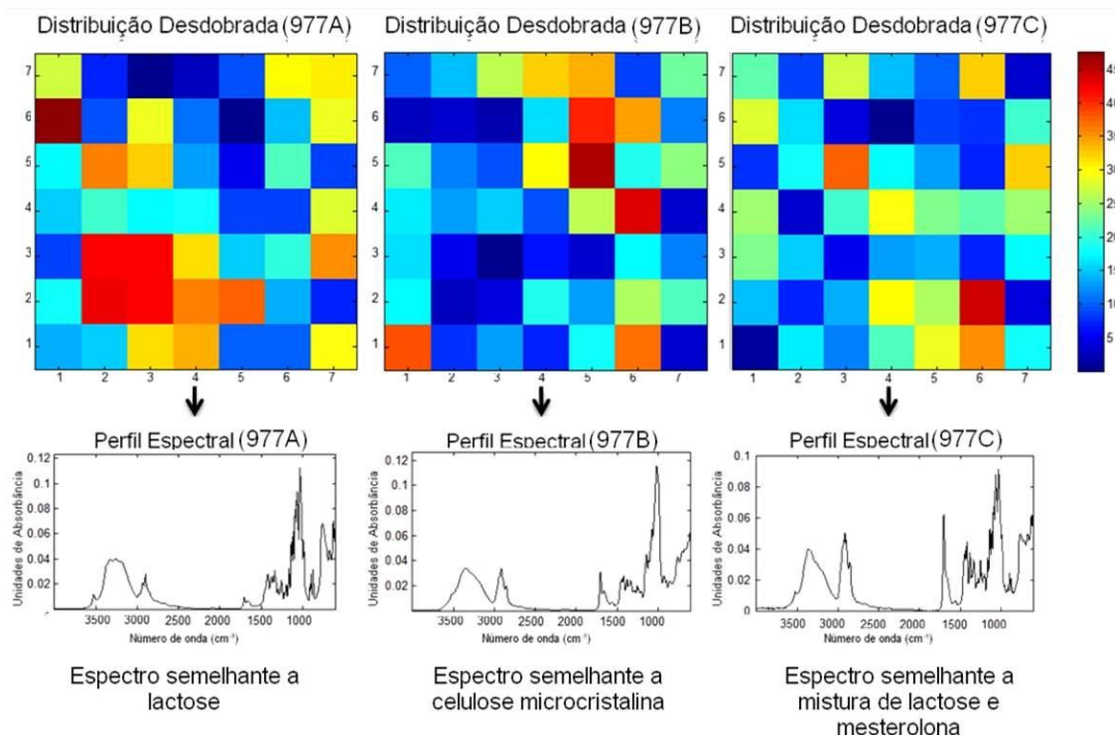


Espectros de Referência

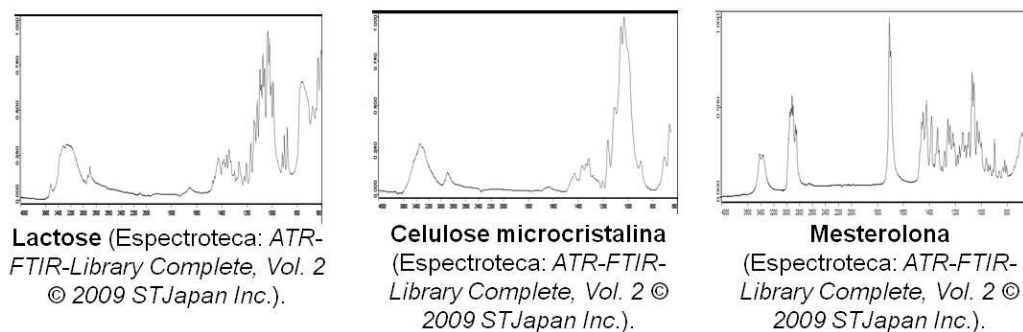


Resultados do método univariado para a amostra codificada como 929. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: oxandrolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: nenhum. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.

Resultados da aplicação do MCR-ALS



Espectros de Referência



Resultados do método univariado para a amostra codificada como 977. Princípio ativo descrito na embalagem do produto questionado: mesterolona. Princípio ativo de acordo com os resultados das análises por  $\mu$ ATR-FTIR: mesterolona. Espectros de referência obtidos da Espectroteca: *ATR-FTIR-Library Complete, Vol. 2* – © 2009 STJapan Inc.