



Universidade de Brasília
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Desenvolvimento de uma nova metodologia analítica para identificação e quantificação de truxilinas em amostras de cocaína baseada em cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM)

Élvio Dias Botelho

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Bastos Cunha
Co-Orientador: Prof. Dr. Alex Fabiano Cortez Campos

Brasília-DF
2011



Universidade de Brasília
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Desenvolvimento de uma nova metodologia analítica
para identificação e quantificação de truxilinas em
amostras de cocaína baseada em cromatografia
líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria
de massas (CLAE-EM)**

Élvio Dias Botelho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Bastos Cunha
Co-Orientador: Prof. Dr. Alex Fabiano Cortez Campos

Brasília-DF
2011

Élvio Dias Botelho

**Desenvolvimento de uma nova metodologia analítica
para identificação e quantificação de truxilinas em
amostras de cocaína baseada em cromatografia
líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria
de massas (CLAE-EM)**

Banca examinadora da
Dissertação para obtenção do grau de mestre

Prof. Dr. Ricardo Bastos Cunha
orientador/presidente

Prof. Dr. Marcelo Valle de Sousa
1º examinador

Prof. Dr. Márcio Talhavini
2º examinador

Brasília, 30 de novembro de 2011.

Aos meus filhos Arthur e Ana Clara pelo amor, e pelos momentos de alegria.

À minha esposa Thaís pela paciência, incentivo, amor e companheirismo.

Aos meus Pais Ronilson e Eluiza,
que me deram a vida, carinho e educação.

Aos meus irmãos Erich e Tainá pelo incentivo e motivação.

À toda minha família pelo apoio.

Aos meus amigos,
por todos os momentos de divertimento e descontração.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Bastos Cunha pela condução dos trabalhos com tranquilidade, paciência, e pela disposição e amplo conhecimento transmitido em diversas áreas.

Ao meu co-orientador e grande amigo Prof. Dr. Alex Fabiano Cortez Campos pelo incentivo e apoio no desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço ao chefe do SEPLAB/INC/DITEC/DPF e amigo Adriano Otávio Maldaner pela disponibilização de tempo para cursar as disciplinas e execução dos trabalhos, além das muitas discussões e orientações durante o planejamento, execução das análises e interpretação dos dados.

Aos amigos e colegas de laboratório e bancada João Carlos Laboisiere Ambrósio e Maurício Leite Vieira pelo inestimável apoio na parte experimental deste trabalho.

Ao amigo e colega de laboratório Jorge Jardim Zacca pelo auxílio na interpretação dos dados e nas discussões sobre o Projeto PeQui.

À toda equipe do SEPLAB/INC/DITEC/DPF pelo apoio nos experimentos, nas trocas de conhecimentos e intermináveis conversas sobre futebol.

Ao colega de mestrado Saulo Goulart e a Christiane Campos pelo auxílio nas análises.

Aos professores do IQ/UnB e amigos de graduação Ângelo Henrique de Lira Machado e Wender Alves da Silva pela ajuda e conversas durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Instituto de Química e aos membros da banca examinadora pela oportunidade dada a mim para realizar este trabalho.

Ao *Special Testing & Research Laboratory* do *Drug Enforcement Administration* (DEA) nos Estados Unidos pela disponibilidade dos padrões de cocaína e truxilinas.

Às direções do Instituto Nacional de Criminalística e da Diretoria Técnico-Científica da Polícia Federal pela liberação parcial de tempo para a execução deste trabalho, pelos insumos químicos, disponibilidade das instalações físicas e equipamentos do SEPLAB/INC/DITEC/DPF.

À FINEP/MCT e UNODC/i90, pelo apoio financeiro.

RESUMO

Programas de perfil químico de drogas podem gerar informações importantes para as autoridades de repressão ao tráfico de entorpecentes. De fato, correlações químicas entre amostras podem ser estabelecidas, e os materiais podem ser classificados em grupos de amostras relacionadas e determina-se se diferentes apreensões foram oriundas de uma mesma fonte. Conseqüentemente, ligações específicas entre diferentes fornecedores podem ser estruturadas, rotas e redes de distribuição podem ser identificadas. Desde 2007, a Polícia Federal tem trabalhado em seu próprio programa de perfil de impurezas de cocaína (“Perfil Químico de Drogas” também conhecido como “PeQui”). No esforço de estabelecer rotinas para o programa de perfil químico brasileiro, este trabalho propõe um método alternativo para analisar alcaloides em amostras de cocaína, que é livre de reagentes de derivatização, que são caros e tóxicos. No presente trabalho, um novo método para identificação e quantificação de truxilinas é proposto, o qual é baseado em cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE/EM). Pelo mesmo método, também é possível detectar simultaneamente os principais alcaloides e adulterantes comumente encontrados em amostras de cocaína, incluindo a benzoilecgonona, cis e trans-cinamoilcocaína, ecgonina, metilecgonina, trimetoxicocaína, tropacocaína, benzocaína, fenacetina, cafeína, lidocaína, levamisol, hidroxizina, diltiazem e procaína. Essa metodologia analítica foi comparada com a metodologia já publicada, de quantificação de truxilinas por CG/DCE, e mostrou boa linearidade e precisão. Além de ser mais rápida, fácil, econômica, e segura do que o método de CG/DCE. Amostras de cocaína apreendidas em 8 estados brasileiros, pela Polícia Federal em 2009, 2010 e 2011, foram analisadas, obtendo-se o teor de truxilinas, de cocaína, de cis e trans-cinamoilcocaínas, e determinando-se a presença de adulterantes. A determinação do teor total de truxilinas pelo método de CG/DCE revelou teores variando entre 0,28-11,89% (m/m relativo à cocaína).

ABSTRACT

Drug impurity profiling can generate important information for drug law enforcement authorities. In fact, chemical correlation between samples can be established, and material from different seizures can be classified into groups of related samples and determined if different seizures were derived from the same source. Consequently, specific links between different suppliers can be structured, drug distribution routes and networks can be built up, and the geographic origin of drug samples may be identified. Since 2007 Brazilian Federal Police has been working on its own cocaine impurity profiling program (“Perfil Químico de Drogas” also known as the “PeQui” project). In the effort of establishing the Brazilian signature program routines, this work suggested an alternative methodology to analyze alkaloids in cocaine samples, which is free of derivatization agents, which are expensive and toxic. In this work, a new LC/MS method is proposed for simultaneous identification and quantification of truxillines; other important cocaine alkaloids, like benzoylecgonine, cis and trans-cinnamoylcocaine, ecgonine, methylecgonine, trimethoxycocaine, tropacocaine; and typical cutting compounds: benzocaine, phenacetin, caffeine, lidocaine, levamisole, hidroxyzin, diltiazem and procaine. This analytical methodology was compared with published method of truxillines analysis by GC/ECD, and showed very good linearity and precision. The LC/MS methodology is faster, easier, economical, and safer than the method of GC/ECD. Cocaine samples from Brazilian Federal Police apprehensions, in the years 2009, 2010 and 2011, were analyzed, obtaining the content of truxillines, of cocaine, and cis and trans-cinnamoylcocaine. The truxillines analysis by GC/ECD methodology revealed that total levels ranged from 0,28-11,89% (w/w relative to cocaine).

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	Histórico de uso e controle da cocaína	1
1.2.	Botânica das plantas de coca	4
1.2.1.	<i>Erythroxylum coca</i> var. <i>coca</i>	6
1.2.2.	<i>Erythroxylum coca</i> var. <i>ipadu</i>	8
1.2.3.	<i>Erythroxylum novogranatense</i> var. <i>novogranatense</i>	9
1.2.4.	<i>Erythroxylum novogranatense</i> var. <i>truxillense</i>	10
1.3.	Principais alcaloides presentes nas folhas de coca	11
1.4.	Truxilinas.....	13
1.5.	Propriedades da cocaína	17
1.5.1.	Propriedades físico-químicas.....	17
1.5.2.	Efeitos farmacológicos.....	19
1.6.	Formas de apresentação da cocaína.....	21
1.7.	Processos de obtenção da cocaína a partir das folhas de coca.....	23
1.8.	Adulterantes e diluentes encontrados em amostra de cocaína ilícita.....	27
1.9.	Tráfico de drogas e a legislação brasileira	32
1.10.	Perfil químico da cocaína	38
1.10.1.	Teor e forma de apresentação da cocaína.....	41
1.10.2.	Alcaloides minoritários.....	42
1.10.3.	Teor total de truxilinas	45
1.10.4.	Análise de Razão Isotópica (RI/EM).....	46
1.10.5.	Perfil de solventes oclusos.....	47
1.11.	Aspectos analíticos.....	48
1.11.1.	Cromatografia Gasosa.....	49
1.11.2.	Técnicas de Derivatização Química.....	50
1.11.3.	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE/EM).....	52
a)	Analisador de massas Triplo Quadrupolo (QqQ).....	54
b)	Analisador de massas por Tempo de Voo (TOF)	54
2.	OBJETIVOS	58
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	59
3.1.	Materiais.....	59
3.1.1.	Equipamentos, vidrarias e acessórios	59

3.2.	Métodos	64
3.2.1.	Análises de truxilinas por CG/DCE	64
a)	Procedimentos de redução e derivatização.....	64
b)	Condições cromatográficas	65
c)	Preparação das curvas analíticas.....	65
d)	Limite de detecção e limite de quantificação	66
e)	Análise das amostras selecionadas por CG/DCE	67
3.2.2.	Análises de CLAE/EM (TOF)	67
a)	Condições cromatográficas	67
b)	Condições do espectrômetro de massas	68
c)	Otimização das condições analíticas.....	68
d)	Preparação das curvas analíticas.....	71
e)	Parâmetros de confiança analítica	72
f)	Precisão e Exatidão.....	72
g)	Análise das amostras selecionadas por CLAE/EM.....	73
3.2.3.	Quantificação de cocaína por CG/DIC.....	74
a)	Condições cromatográficas	74
b)	Preparação das curvas analíticas.....	74
c)	Análise das amostras selecionadas por CG/DIC.....	75
3.2.4.	Análises de alcaloides e adulterantes por CLAE/EM-EM (Triplo quadropolo)	75
a)	Condições cromatográficas	75
b)	Condições do espectrômetro de massas	76
4.	RESULTADOS	78
4.1.	Análises de truxilinas por CG/DCE.....	78
4.1.1.	Curvas Analíticas.....	81
4.1.2.	Limite de detecção e de quantificação	84
4.1.3.	Resultados das análises das amostras e classificação por origem geográfica	85
4.2.	Metodologia de identificação e quantificação de truxilinas por CLAE/TOF-EM...	86
4.2.1.	Resultados qualitativos.....	86
4.2.2.	Otimização das condições analíticas.....	90
4.2.3.	Curva Analítica	91
4.2.4.	Limite de detecção e limite de quantificação	92
4.2.5.	Precisão e exatidão intra-ensaio e inter-ensaio.....	93

4.2.6. Resultados das análises de amostras por CLAE/EM	93
4.3. Análises de alcaloides e adulterantes por CLAE/TOF-EM	93
4.3.1. Curvas Analíticas.....	96
4.3.2. Limite de detecção	99
4.4. Identificação de adulterantes nas amostras	99
4.5. Determinação dos teores de cocaína nas amostras.....	102
4.6. Determinação dos teores de cis e trans-cinamoilcocaína e grau de oxidação das amostras.....	105
4.7. Análises de alcaloides e adulterantes por CLAE/EM-EM.....	107
5. DISCUSSÃO	112
5.1. Introdução	112
5.2. Desenvolvimento da metodologia proposta e análise de truxilinas	112
5.3. Determinação do teor de cocaína nas amostras	128
5.4. Determinação da presença de adulterantes nas amostras	129
5.5. Determinação do grau de oxidação das amostras	130
5.6. Análises por CLAE/EM-EM.....	130
6. CONCLUSÕES	131
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	132

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: Anidrido acético

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CG/DCE: cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons

CG/DIC: cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama

CG/DNP: cromatografia gasosa com detecção termiônica específica (detector seletivo de nitrogênio e fósforo)

CG/EM: cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas

CG: cromatografia gasosa

CLAE/DAD: cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos

CLAE/EM: cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrômetro de massas

CLAE/EM-EM: cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrômetro de massas em *tandem*

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência

CV: coeficiente de variação

ECVC: *Erythroxylum coca* var. *coca*

ECVI: *Erythroxylum coca* var. *ipadu*

EIC: do inglês, *Extract ion chromatogram*, cromatograma reconstruído somente com a intensidade de íon específico de determinado analito.

ENVC: *Erythroxylum novogranatense* var. *novogranatense*

ENVT: *Erythroxylum. novogranatense* var. *truxillense*

HFBA: Anidrido heptafluorobutírico

LD: limite de detecção

LQ: limite de quantificação

MRM: do inglês, *multiple reaction monitoring* - monitoramento de múltiplas reações

PF: Polícia Federal

PFPA: Anidrido pentafluoropropiônico

PTV: injetor para cromatografia gasosa, do inglês, *programmed temperature vaporization* – vaporização com temperatura programada

RTI/DEA: padrão de cloridrato de cocaína, contendo quantidades estabelecidas de cocaína e alcaloides de coca, utilizado na construção das curvas de calibração e controles dos métodos de quantificação de truxilinas e demais alcaloides.

SEPLAB/INC/DITEC/DPF: Serviço de Perícias de Laboratório e Balística/Instituto Nacional de Criminalística/Diretoria Técnico-Científica/Departamento de Polícia Federal

SETEC: Setor Técnico Científico

SVS: Secretaria de Vigilância Sanitária, substituída pela ANVISA

TCAA: Anidrido tricloroacético

TFAA: Anidrido trifluoroacético

TOF: analisador de espectrômetro de massas por tempo de voo

UHPLC: do inglês, *ultra high performance liquid chromatography* - cromatografia líquida de pressão ultra-alta

UPLC: do inglês, *ultra performance liquid chromatography* - cromatografia líquida de ultra eficiência

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teor de cocaína em folhas de coca em função da espécie de <i>Erythroxylum</i>	5
Tabela 2 - Teores de alguns alcaloides, em folhas de coca, em função do país de origem.....	13
Tabela 3 - Teor de truxilinas em folhas de coca cultivadas na América do Sul.....	15
Tabela 4 - Teores médios de truxilinas em amostras ilícitas de cloridrato de cocaína da América do Sul.....	16
Tabela 5 - Algumas características físicas e químicas da cocaína base e do cloridrato de cocaína.....	18
Tabela 6 - Fármacos presentes como adulterantes, em 51 amostras de cocaína....	31
Tabela 7 - Quantidade de cocaína (kg) apreendida pela PF por estado nos últimos 5 anos.....	35
Tabela 8 - Resumo das principais publicações científicas sobre perfil químico baseado nos alcaloides de cocaína.....	42
Tabela 9 - Concentrações dos alcaloides na solução estoque para análises por CLAE/EM.....	63
Tabela 10 - Concentrações das truxilinas nas soluções utilizadas para a construção das curvas de calibração.....	66
Tabela 11 - Gradiente utilizado nas análises por LC-EM.....	68
Tabela 12 - Concentrações totais dos analitos nas soluções utilizadas para a construção das curvas de calibração.....	71
Tabela 13 - Gradiente utilizado nas análises por CLAE/EM-EM.....	76
Tabela 14 - Transições de MRM monitorados, voltagem de fragmentação e energia de colisão (CID) para cada analito investigado por CLAE/EM-EM.....	77
Tabela 15 - Tempos de retenção por CG/DCE dos derivados di-heptafluorobutíricos dos dióis truxilil e truxinil.....	78
Tabela 16 - Áreas relativas obtidas para a elaboração das curvas analíticas dos isômeros e respectivos coeficientes de variação (%CV).....	80
Tabela 17 - Origem geográfica das amostras analisadas por estado de apreensão de acordo com o teor total de truxilinas por CG/ECD.....	86

Tabela 18 - Medidas de massas exatas e abundância isotópica experimentais e calculadas dos íons mono e duplamente carregados das truxilinas e cinamoilcoínas.....	89
Tabela 19 - Medidas de massas exatas experimentais e calculadas dos produtos detectados de hidrólise das truxilinas.....	89
Tabela 20 - Tempo de retenção, retenção relativa, fator de retenção e fator de alargamento dos picos cromatográficos obtidos para as truxilinas e padrão interno (PI).	91
Tabela 21 - Parâmetros cromatográficos utilizados para avaliar a eficiência na separação dos analitos nas condições cromatográficas propostas.....	91
Tabela 22 - Áreas relativas totais obtidas para a elaboração da curva analítica de truxilinas e respectivos desvio padrão (DP) e coeficientes de variação (%CV).	92
Tabela 23 - Precisão e exatidão do método proposto para quantificação de truxilinas, em três concentrações diferentes.	93
Tabela 24 - Medidas de massas exatas de padrões de alcaloides e adulterantes em solução de metanol por CLAE/TOF-EM.	96
Tabela 25 - Limites de detecção estabelecidos para os alcaloides pela metodologia proposta.	99

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da cocaína.....	5
Figura 2 - Arbusto de <i>Erythroxylum coca</i> var. <i>coca</i> .(a) fotografia. (b) desenho esquemático.....	6
Figura 3 - Principais alcaloides com núcleo tropânico presentes nas folhas de coca.	12
Figura 4 - Higrina e cuscohigrina, alcaloides presentes nas folhas de coca.	13
Figura 5 - Estruturas dos 11 isômeros de truxilinas.....	14
Figura 6 - Formação de truxilinas nas plantas de coca via fotoadição catalisada por UV.	16
Figura 7 - Reações de hidrólise da cocaína.	18
Figura 8 - Formação do cloridrato de cocaína.	19
Figura 9 - Formas de apresentação da cocaína.	22
Figura 10 - Produção da pasta base de cocaína.	24
Figura 11 - Produção da cocaína base.....	25
Figura 12 - Produção do cloridrato de cocaína.....	25
Figura 13 - Produção do crack.	26
Figura 14 - Produção da merla.	26
Figura 15 - Alcaloides formados durante a oxidação da cocaína.	27
Figura 16 - Estruturas químicas dos principais adulterantes de cocaína encontrados no Brasil.	29
Figura 17 - Cultivo mundial de arbustos de coca, no período de 1990 a 2009.....	33
Figura 18 - Produção mundial de cocaína, no período de 1990 a 2008.	33
Figura 19 - Pontos de entrada e saída de cocaína, utilizadas pelo narcotráfico passando em território brasileiro.	34
Figura 20 - Formação de artefatos de truxilinas por cromatografia gasosa, sem derivatização prévia.	46
Figura 21 - Espectro de massas da cocaína em instrumento de CLAE/TOF-EM.....	56
Figura 22 - Cromatograma típico dos derivados di-heptafluorobutíricos dos dióis truxilil e truxinil por CG/DCE. Picos: mesma numeração utilizada na Tabela 15.....	79
Figura 23 - Reações de redução e derivatização sofridas pelas truxilinas na sua preparação para análise por CG/DCE.....	79

Figura 24 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Épsilon.	81
Figura 25 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Delta.	81
Figura 26 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Beta.	82
Figura 27 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Peri.	82
Figura 28 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Neo.	82
Figura 29 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Epi..	83
Figura 30 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Alfa.	83
Figura 31 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero.....	83
Figura 32 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Gama.	84
Figura 33 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Zeta.	84
Figura 34 - Origem geográfica das amostras, de acordo com o teor total de truxilinas por CG/ECD.	85
Figura 35 - Origem geográfica das amostras analisadas separadas conforme a sua forma de apresentação.	85
Figura 36 - Cromatograma reconstruído (EIC), padrão RTI-DEA em metanol, do íon de m/z 659,3327, íon [M+H] ⁺ das truxilinas.....	86
Figura 37 - Espectro de massas de CLAE/EM do pico 3 da Figura 22, no tempo de retenção 10,11 minutos.....	87
Figura 38 - Comparação entre a ampliação dos espectros de massas do íon duplamente carregado das truxilinas (a) e o íon mono carregado da trans-cinamoilcocaína (b).	87
Figura 39 - Ampliação dos cromatogramas reconstruídos (EIC), injeção do padrão RTI-DEA em metanol.	88

Figura 40 - Estruturas dos produtos de hidrólise do isômero beta das truxilinas, em amostras de cocaína refinadas, de acordo com numeração da Tabela 19.....	90
Figura 41 - Representação da curva analítica para a determinação do total de truxilinas nas concentrações de 5,8 a 72,0 mg/L.	92
Figura 42 - Cromatogramas típicos reconstruídos (EIC) dos íons $[M+H]^+$ dos alcaloides investigados (padrões) em uma mesma injeção... ..	94
Figura 43 - Cromatogramas típicos reconstruídos (EIC) dos íons $[M+H]^+$ dos adulterantes investigados (padrões) em uma mesma injeção.....	95
Figura 44 - Representação da curva analítica para a determinação de benzoilecgonina.	97
Figura 45 - Representação da curva analítica para a determinação de ciscinamoilcocaína.....	97
Figura 46 - Representação da curva analítica para a determinação de ecgonina....	97
Figura 47 - Representação da curva analítica para a determinação da metilecgonina.	98
Figura 48 - Representação da curva analítica para a determinação da trimetoxicocaína.	98
Figura 49 - Representação da curva analítica para a determinação da tropacocaína.	98
Figura 50 - Presença de adulterantes no total de amostras analisadas.	100
Figura 51 - Presença de adulterantes nas amostras provenientes da Região Norte.	100
Figura 52 - Presença de adulterantes nas amostras provenientes da Região Centro-Oeste.....	101
Figura 53 - Presença de adulterantes nas amostras provenientes da Região Sudeste.	101
Figura 54 - Presença de adulterantes nas amostras provenientes da Região Sul.	101
Figura 55 - Teores médio, mínimo e máximo de cocaína por estado, nas amostras analisadas.	102
Figura 56 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Acre.....	103
Figura 57 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Amazonas.	103
Figura 58 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras de Rondônia.....	103
Figura 59 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Distrito Federal..	104

Figura 60 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras de Mato Grosso.....	104
Figura 61 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Mato Grosso do Sul.	104
Figura 62 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Paraná.	105
Figura 63 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras de São Paulo.	105
Figura 64 - Grau de oxidação de todas as amostras analisadas.....	106
Figura 65 - Grau de oxidação de amostras de cocaína na forma de base.....	106
Figura 66 - Grau de oxidação em amostras de cocaína na forma de sal cloridrato.	107
Figura 67 - Grau de oxidação: alto, médio, e baixo das amostras analisadas por estado.	107
Figura 68 - Cromatogramas das duas transições MRM de cada um dos alcaloides investigados (padrões) em uma mesma injeção..	108
Figura 69 - Cromatogramas das duas transições MRM de cada um dos adulterantes investigados (padrões) em uma mesma injeção..	109
Figura 70 - Espectros de massas da fragmentação (EM/EM) do íon de m/z 330,0, no tempo de retenção da cis-cinamoilcocaína, em três energias de colisão.....	110
Figura 71 - Espectros de massas da fragmentação (EM/EM) do íon de m/z 330,0, no tempo de retenção de um dos isômeros da truxilina	110
Figura 72 - Espectros de massas da fragmentação (EM/EM) do íon de m/z 659,0, no tempo de retenção de um dos isômeros da truxilina	111

1. INTRODUÇÃO

1.1. Histórico de uso e controle da cocaína^{1,2,3}

Culturas nativas da América do Sul têm mascado folhas de cocaⁱ por milhares de anos em ocasiões religiosas e sociais, para inibir a fome, diminuir o cansaço e aumentar a resistência física. Vários artigos foram publicados relatando achados de restos vegetais de plantas de coca no Peru, além de artefatos de cerâmica encontrados na região andina. O artefato arqueológico mais antigo que sugere o uso de folhas de coca trata-se de um pequeno recipiente de cerâmica para cal, datado de cerca de 2100 A.C.⁴ encontrado no sudoeste do Equador. Em publicações mais recentes foram encontrados vestígios mais diretos: Cartmell *et al.*⁵ descreveram a detecção de benzoilecgonina (principal metabólito da cocaína) em 114 amostras de cabelo de múmias de populações pré-hispânicas no Chile, sendo as amostras mais antigas datadas entre 250 e 350 A.C. Hastorf⁶ descreveu que foram encontrados no Peru, em escavações de estruturas habitacionais, uma folha de coca e dois endocarpos identificados como da espécie *Erythroxylum coca* var. *coca*, datados entre 1300 e 1500 D.C.

No Peru os Incas integravam o uso de folhas de coca na sua rotina e misturavam na boca as folhas de coca com cal ou cinzas para facilitar a absorção da mesma pelo sistema digestivo, deixando esta mistura (bola) na boca por horas. O uso era, originalmente, restrito aos sacerdotes e à nobreza, mas quando os conquistadores espanhóis subjugarão o Império Inca no século XVI, o cultivo e a disponibilidade das folhas aumentaram bastante. Os espanhóis estimularam este aumento para benefício próprio, para gerar impostos, e propiciar que os Incas trabalhassem de forma mais eficiente em altitudes elevadas e nas minas de prata, ouro, cobre e estanho. Muitos trabalhadores indígenas dessas minas morreram muito jovens, principalmente nas minas de prata. Tragicamente, essas mortes, combinadas com um aumento maciço na mortalidade devido a doenças importadas, provocou a morte de quase metade da força de trabalho indígena entre 1540 e 1620.

ⁱ O termo “folhas de coca” será utilizado referindo se às folhas das plantas das variedades *Erythroxylum coca* var. *coca*, *Erythroxylum coca* var. *ipadu*, *Erythroxylum novogranatense* var. *novogranatense* e *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense*.

Durante este período o cultivo de coca na região andina se expandiu notavelmente na área dos *Yungas* (Bolívia), onde fazendas de coca especializadas surgiram, muitas vezes em terrenos de propriedade dos próprios colonizadores espanhóis. Na época em que Pizarro chegou à América do Sul (1627), as folhas de coca eram mastigadas por quase todos os trabalhadores indígenas e a coca tinha emergido como uma importante atividade agrícola. O cultivo foi tratado de forma semelhante a outros produtos agrícolas, com os agricultores obrigados a pagar o dízimo para terras com plantações de coca.

Atualmente, o cultivo, o comércio, a mastigação e o consumo de chá de coca são legais na Bolívia, Peru e Noroeste da Argentina.

O uso das folhas de coca pelos indígenas sul-americanos é conhecido na Europa desde o começo do século XVI. Porém, somente em 1859, o químico Albert Niemann isolou a cocaína das folhas de coca, em Gottingen, Alemanha. Levaram-se pouco mais de 20 anos até que este alcaloide, considerado o primeiro anestésico local a ser descoberto, tivesse as suas propriedades relatadas por Von Anrep, em 1880. A partir de 1884, o médico Karl Koller, que descobriu suas propriedades anestésicas, e Sigmund Freud difundiram o uso clínico da cocaína refinada na forma de seu sal cloridrato. A cocaína era recomendada para uma série de doenças, incluindo depressão, tuberculose, problemas gástricos, asma, e como antídoto no tratamento das dependências à morfina e ao álcool. Em 1886, John Pemberton lançou a famosa bebida “Coca-Cola[®]”, que continha cocaína. No final dos anos 1860, vinhos contendo cocaína se tornaram populares na França e Itália. No entanto, devido às complicações surgidas com o uso da cocaína e as restrições impostas a sua comercialização, a partir de 1902 todas as bebidas à base de “xarope de folhas de coca” começaram a ser produzidas com extratos descocainizados.

Entre a virada do século e 1912, o Peru e a colônia holandesa de Java, onde as plantas de coca foram introduzidas somente em 1875⁷, tornaram-se os maiores produtores e exportadores de folha de coca do mundo, com uma produção em larga escala.

Como a cocaína já estava amplamente disponível e algumas pessoas haviam se tornado usuários crônicos, a real natureza e os efeitos colaterais dela se tornaram evidentes, e os problemas com o vício de cocaína foram então reconhecidos.

Concomitantemente, foram descobertos anestésicos sintéticos, como procaína e lidocaína, que vieram a substituir a cocaína para uso medicinal.

Em 1906 foi introduzida a nova legislação de controle nos EUA (leis estaduais e a lei federal denominada Pure Food and Drug Act, de 1906). Esta nova lei federal publicada pelo FDA (Food and Drug Administration) obrigava a classificar e regular drogas potencialmente nocivas e aditivos em medicamentos. A cocaína caiu na categoria de potencialmente prejudicial e isso serviu para atenuar algumas das falsas alegações sobre os efeitos benéficos da cocaína.

Na Primeira Convenção Internacional sobre Drogas, realizada em Xangai em 1909, a Comissão do Ópio regulamentou a produção e a comercialização da cocaína. Durante a Convenção Internacional do Ópio, realizada em Haia em 1912, um acordo internacional foi assinado, entrando em vigor em 1915, por meio do qual a cocaína passou a ser controlada. Essa convenção tinha o objetivo de reduzir as remessas de entorpecentes que não eram usados para fins médicos e, assim, o referido acordo emergiu como um instrumento verdadeiro de controle internacional. A partir de 1920, o controle internacional de drogas tornou-se parte das tarefas assumidas pela Liga das Nações. Sob seus auspícios, três principais convenções foram realizadas: a Convenção de 1925 (por meio do qual a ecgonina e todos os seus derivados, utilizados como precursores na síntese da cocaína foram submetidos a controle internacional), a Convenção de 1931 e a Convenção de 1936. Estas forneceram as bases para a prática das operações internacionais de controle de drogas, e, certamente, muito progresso foi feito na redução do comércio legal de entorpecentes durante este período.

Os marcos seguintes foram a Convenção Única de Entorpecentes em 1961, que proibiu a produção, comercialização e uso de todos os narcóticos, a não ser para fins médicos e expandiu o controle às folhas de coca; a Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas, de 1971; e a Convenção das Nações Unidas contra o Tráfico Ilícito de Entorpecentes e Substâncias Psicotrópicas, de 1988. Cada uma dessas convenções respondeu a evoluções específicas ou não resolvidas e acrescentou novos elementos para os regimes de controle.

A Convenção de 1988 além das proibições sobre a cocaína e o cultivo dos arbustos de coca, instituiu o controle sobre precursores químicos e solventes utilizados por laboratórios clandestinos de refino e estabeleceu bases para a

colaboração entre as autoridades policiais das diversas nações no combate ao narcotráfico.

1.2. Botânica das plantas de coca

A família Erythroxylaceae é constituída por quatro gêneros: *Aneulophus*, *Erythroxylum*, *Nectaropetalum* e *Pinacopodium*. O gênero *Erythroxylum* contém cerca de 230 espécies de árvores tropicais e arbustos, sendo que aproximadamente 187 são nativas da região neotropical, que abrange a parte sul da América do Norte, e as Américas Central e do Sul. As demais espécies estão distribuídas em outras regiões tropicais da África e Madagascar.⁸

A cocaína foi detectada em 23 espécies selvagens de *Erythroxylum* com teores inferiores a 0,001% para todas as espécies, exceto para a *Erythroxylum laetevirens*, encontrada na Venezuela, em que um teor 10 vezes maior foi determinado. Além disso, também foram detectadas cinamoilcocaínas, nesta última espécie⁹. Neste mesmo estudo, em plantas coletadas no Brasil, foram detectados entre 0,0001% e 0,0005% de cocaína nas espécies *Erythroxylum deciduum*, *Erythroxylum pulchrum*, *Erythroxylum frangulifolium*, *Erythroxylum subrotundum*, e entre 0,001 e 0,005% de cocaína na espécie *Erythroxylum andrei*.

Porém somente quatro variedades de duas espécies: *Erythroxylum coca* var. *coca* (ECVC), *Erythroxylum coca* var. *ipadu* (ECVI), *Erythroxylum novogranatense* var. *novogranatense* (ENVN) e *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* (ENVT) apresentam maiores teores de cocaína. Estas foram domesticadas em tempos pré-colombianos e são normalmente cultivadas para a produção de cocaína¹⁰ (Figura 1), representando cerca de 97% da produção mundial¹.

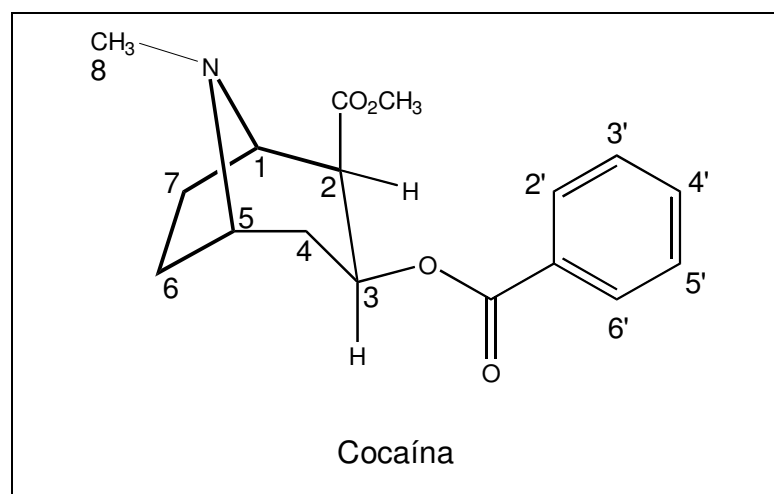


Figura 1 - Estrutura química da cocaína.

As folhas destas quatro variedades, conhecidas como “folhas de coca”, apresentam teores de alcaloides totais (cerca de 20 substâncias químicas diferentes) que variam de 0,5% a 1,5%, dos quais aproximadamente 75% são correspondentes à cocaína. A Tabela 1¹¹ ilustra o teor de cocaína encontrado nas espécies de *Erythroxylum* cultivadas.

Tabela 1 - Teor de cocaína em folhas de coca em função da espécie de *Erythroxylum*.

Espécie/Variedade ^a	Teor de cocaína ^b	Média
<i>E. coca</i> var. <i>coca</i>	0,23 – 0,96	0,63
<i>E. coca</i> var. <i>ipadu</i>	0,11 – 0,41	0,25
<i>E. novogranatense</i> var. <i>novogranatense</i>	0,55 – 0,93	0,77
<i>E. novogranatense</i> var. <i>truxillense</i>	0,42 – 1,02	0,72

^a Amostras analisadas: ECVI (N=30), ECVI (N=6), ENVN (N=3), ENVT (N=14).

^b em mg/100 mg de folhas secas.

Em 1997, foi publicado um estudo que apresentou a determinação do teor de cocaína em 110 amostras de folhas de *E. coca* var. *coca*, oriundas de regiões da Bolívia.¹² Os resultados obtidos foram coerentes com os constantes da Tabela 1, tendo sido obtidos teores de cocaína de 0,33 mg/100 mg (Yungas) e 0,32 mg/100 mg (Chapare), na estação chuvosa, e 0,60 mg/100 mg (Yungas) e 0,50 mg/100 mg (Chapare), na estação seca.

A maior parte das folhas de coca é cultivada em florestas tropicais nas encostas e vales orientais da Cordilheira dos Andes, ocupando áreas da Bolívia, do Peru, do Equador e da Colômbia.

A Figura 2 mostra a fotografia de um arbusto de *Erythroxylum coca* e uma representação esquemática de suas folhas, com destaque para as duas linhas que se alongam paralelamente à nervura central das folhas.

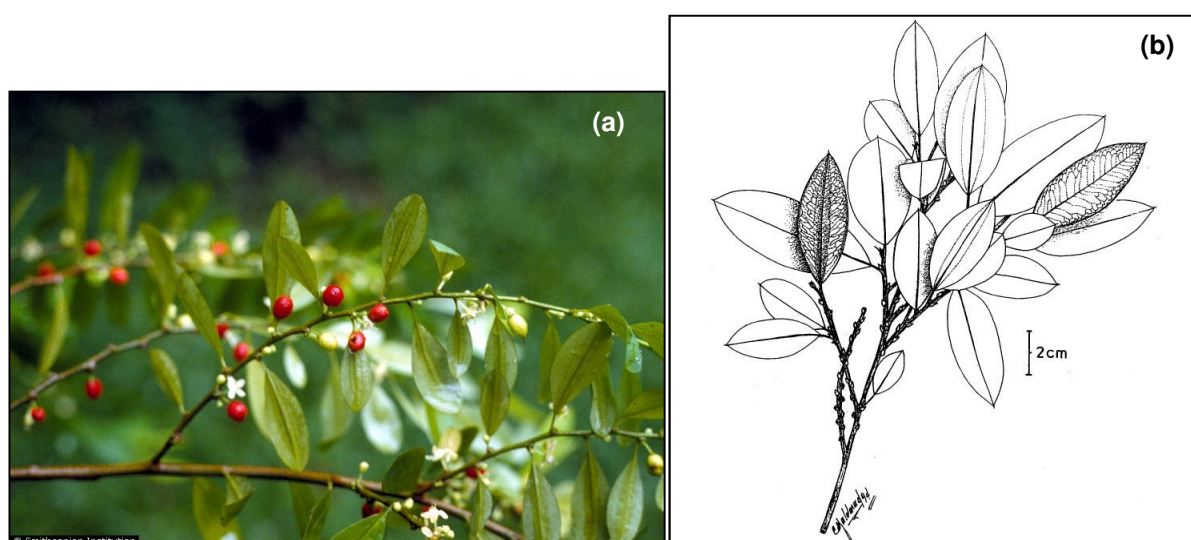


Figura 2 - Arbusto de *Erythroxylum coca* var. *coca*.(a) fotografiaⁱⁱ. (b) desenho esquemático.¹²

Existem poucas informações sobre a função natural da cocaína nas plantas. Segundo Nathanson e colaboradores¹³, este alcaloide tem propriedades inseticidas em concentrações que ocorrem normalmente em plantas nativas, devido à potencialização da neurotransmissão octopaminérgica dos insetos.

1.2.1. *Erythroxylum coca* var. *coca*^{4,10}

Uma das principais variedades cultivadas na América do Sul e que já foi a maior fonte de cocaína para o comércio ilícito até a década de 1990 é a *Erythroxylum coca* var. *coca*, também conhecida como “huánaco coca” ou coca boliviana. É um arbusto, cuja estatura atinge entre 1 e 3 m, cultivado principalmente entre 500 e 1.500 m, podendo atingir 2.000 m em algumas áreas, em regiões de

ⁱⁱ USDA, NRCS. 2011. The PLANTS Database (<http://plants.usda.gov>, 8 June 2011). National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA.

floresta tropical úmida, nas encostas e vales orientais da Cordilheira dos Andes. Geograficamente, a ocorrência da ECVC se estende do sul do Equador à Bolívia, não sendo encontrada na Colômbia nem na Amazônia. Somente no Equador, onde se encontra floresta tropical úmida dos dois lados dos Andes, ocorre também nas encostas ocidentais.

Pode ser encontrada como plantas selvagens em regiões próximas ou distantes das plantações de coca, sendo normalmente impossível distinguir plantas de ECVC selvagens daquelas cultivadas pelo homem. Acredita-se que a ECVC seja a única de ocorrência natural e selvagem, sendo, a partir dela, por intervenção humana, derivadas as outras três variedades de *Erythroxylum*: ECVI, ENVN e ENVT.

O cultivo da ECVC é realizado em plantações de tamanhos variados em encostas íngremes de montanhas ou em vales ao longo dos Andes. Esta é uma área de precipitação geralmente elevada e solos férteis, coberta naturalmente por floresta tropical. Os arbustos são plantados em fileiras, em terraços cuidadosamente preparados. Terraços de coca são especialmente evidentes nos antigos distritos de coca de Cuzco, no Peru, e Yungas, na Bolívia. Em novas áreas de expansão da produção de coca, como o Vale Huallaga, no Peru, e Chapare, na Bolívia, o terraceamento é menos importante e os arbustos são simplesmente plantados em fileiras em encostas limpas recentemente.

Na Bolívia, as duas principais regiões de cultivo de coca são as florestas úmidas de montanha tropical ao longo das encostas orientais dos Andes, chamadas de Yungas, no departamento de La Paz (elevação: 1.000-2.000 m), e as planícies úmidas do Chapare, no departamento de Cochabamba (elevação: <500 m).¹²

A ECVC é cultivada semeando-se viveiros, sendo as mudas depois transplantadas para os locais definitivos. Uma vez estabelecida, uma plantação de coca produzirá sua primeira colheita em 1-2 anos e chegará à produtividade máxima em cerca de cinco anos. As plantas podem manter-se produtivas por até 40 anos e de 5 a 10 anos após o plantio, as plantas são geralmente arrancadas ou cortadas próximas do nível do solo, devido à diminuição dos teores de cocaína nas novas folhas de plantas mais velhas.

Na colheita das plantas de ECVC, todas as folhas são retiradas da planta com as mãos e deixadas secar ao ar livre imediatamente, para evitar a decomposição e

preservar o teor de cocaína. Normalmente, a colheita ocorre a cada três meses, sob condições climáticas favoráveis, embora tenham sido relatadas colheitas ocorrendo a cada dois, quatro meses ou cinco vezes por ano, conforme resumiu Acock¹⁴.

A ECVC possui casca de coloração vermelho-amarronzada, folhas dispostas de maneira espiral, órgãos florais de cor branca (ou amarelada) nas axilas, e frutas pequenas e vermelhas.

1.2.2. *Erythroxylum coca* var. *ipadu*^{4,10,15}

O Brasil, embora não figure entre os maiores produtores de cocaína, também possui na região amazônica condições climáticas favoráveis ao plantio da espécie *Erythroxylum coca*. A variedade chamada de Ipadu, Patu ou Epadu (*Erythroxylum coca* var. *ipadu*), encontrada na região norte do país (Acre, Amazonas e Pará⁸), a apresenta teor de cocaína mais baixo, conforme Tabela 1, o que provavelmente é uma das razões pela qual o extrativismo ilícito dessa substância não seja considerado viável e, praticamente, não tenha sido observado no país.

A ECVI está intimamente ligada à ECVC, da qual se originou em tempos relativamente recentes. Essa variedade era cultivada em pequena escala, em pequenas parcelas de floresta por uma série de tribos indígenas do alto Amazonas, principalmente na sua parte ocidental, em partes da Colômbia, do Equador, do Peru e do Brasil. É propagada por estaquia e não por sementes, e as plantações inteiras podem representar um único clone e, como tal, está bem adaptada ao padrão de agricultura itinerante praticada por povos seminômades da região amazônica. A ECVI não é encontrada na forma de indivíduos selvagens e pode ser considerada um cultivo.

A ECVI era desconhecida dos europeus até meados do século XVIII. Detalhes do seu cultivo, uso e distribuição geográfica não foram registrados até o século passado. A ECVI não tem registro arqueológico que determine a data de sua origem na Amazônia. Baseado em evidências linguísticas, etnográficas, históricas e botânicas, esta variedade parece ter apresentado desenvolvimento relativamente recente. Parece certo que a ECVI evoluiu da ECVC introduzida por indígenas dos Andes por meio da seleção de características favoráveis ao seu cultivo na Amazônia e encontra-se geograficamente isolada de outras variedades de coca cultivadas da região andina.

Até meados da década de 1970, não houve produção comercial de coca na Amazônia. No entanto, os traficantes de cocaína da Colômbia, em seguida, descobriram o cultivo de coca entre algumas tribos amazônicas. Os traficantes descobriram que teriam mais facilidade em produzir a cocaína clandestina em regiões amazônicas planas e remotas do leste e sudeste da Colômbia, o que compensaria o fato de esta variedade possuir teores menores de cocaína.

1.2.3. *Erythroxylum novogranatense* var. *novogranatense*^{4,10}

Existem evidências que sugerem que a espécie *Erythroxylum novogranatense* também surgiu como uma planta domesticada por meio da seleção humana de ECVC. A *E. novogranatense* var. *novogranatense* é conhecida como "coca colombiana". As duas variedades da *Erythroxylum novogranatense* são mais fortemente diferenciadas uma da outra que a ECVC da ECVI. Isto sugere um maior isolamento entre as variedades e uma diferenciação mais antiga da *E. novogranatense* com relação às variedades de *E. coca*.

As duas variedades de *E. novogranatense* são conhecidas atualmente apenas como plantas cultivadas, são bem adaptadas às condições áridas e geralmente são cultivadas em áreas onde a *E. coca* não sobreviveria. A *E. novogranatense* difere fundamentalmente da *E. coca* nos teores de alcaloides e flavonoides. Por exemplo, ambas as variedades de *E. novogranatense* produzem altos níveis de cinamoilcocaínas, que são encontradas apenas em pequenas quantidades na *E. coca*.

A ENVN difere morfológicamente das outras variedades por sua folhagem brilhante verde-amarela e pela falta de estípulas persistentes. Tal como a EVNT, esta variedade está bem adaptada às condições áridas e geralmente é cultivada nos vales mais secos, interandinos da Colômbia e ao longo da costa do Caribe. No início da década de 1980, contudo, era cultivada principalmente por algumas tribos indígenas isoladas, principalmente na Serra Nevada de Santa Marta, e nos departamentos de Santander, Cauca e Huila, a cerca de 1.800 m de altitude. Arbustos de ENVN não são cultivados em fileiras de terraços, como a ECVC, mas sim em pequenas parcelas em terreno plano ou levemente inclinado. Os arbustos são muito espaçados e podem crescer muito em comparação com ECVC.

Por apresentar um alto teor de alcaloides difíceis de serem extraídos das folhas de coca, por muito tempo a ENVN foi pouco cultivada para produção de cocaína. A ENVN também é utilizada para a mastigação e, na medicina caseira. Além disso, é comumente plantada como planta ornamental ao longo dos Andes na Colômbia.

Ao contrário das outras três variedades de coca, a ENVN é bastante resistente e tolerante a diversas condições ecológicas. Por esta razão, foi a variedade introduzida amplamente na horticultura no século passado e distribuída para muitos países tropicais, tanto como planta ornamental como fonte de cocaína. Durante a primeira parte do século XX, tornou-se uma importante fonte de lucro para Java, onde foi introduzida por agricultores holandeses.

Na América do Sul, a ENVN está isolada geograficamente de outras variedades de coca, em contraste com os padrões de distribuição mais complexos vistos para a EVCV. Esse isolamento levou a mudanças fundamentais na sua química de flavonoides e biologia reprodutiva.

1.2.4. *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense*^{4,10}

A *E. novogranatense* var. *truxillense*, que também é conhecida como "a coca de Trujillo", é cultivada nos vales dos rios da costa norte do Peru entre 200 e 1.800 m de altitude, e próximo dali no vale árido de *Marañon*. Uma população cultivada separada foi observada na província de Carchi no noroeste do Equador. Ela é cultivada hoje em uma escala relativamente pequena para mascar coca, e no norte do Peru, como um extrato aromático do refrigerante Coca-Cola®. Apesar de a ENVN ser um arbusto muito resistente à seca, ele ainda requer alguma irrigação. Nos tempos pré-colombianos, as plantas foram cultivadas em terraços irrigados nos lados dos vales dos rios em toda a costa do Peru. Hoje, as plantações tendem a ocorrer em áreas planas no fundo do vale onde as plantas são regadas com canais de irrigação. Nas plantações os arbustos de ENVN são bem afastados devido à escassez de água, assim os arbustos individuais crescem muito e de maneira densa. Estes arbustos relativamente grandes são capazes de resistir às secas severas, apresentando resistência superior à da maioria das outras plantas cultivadas na área. As folhas de ENVN são menores, mais claras e mais frágeis que as folhas de *E. coca*. Por conter mais substâncias aromatizantes não encontradas em *E. coca*, a

ENVT foi valorizada no século XIX pelas indústrias farmacêuticas europeia e norte-americana. Por ser mais difícil extrair e cristalizar cocaína de suas folhas, esta variedade não é comumente usada para produção comercial⁴.

A ENVT está isolada geográfica e ecologicamente das outras variedades de coca. Com base em relações genéticas e geográficas, é altamente sugestivo que a ENVT evoluiu diretamente da *E. coca* var. *coca* com uma seleção intensiva para o cultivo em ambientes secos, possivelmente por apresentar folhas mais delicadas e saborosas e um arbusto com mais folhas. A ENVT posteriormente deu origem à variedade ENVN colombiana no norte dos Andes, em condições semelhantes de isolamento geográfico e de contínua seleção humana.

Existem poucas informações sobre quais variedades são plantadas atualmente para a produção ilícita de cocaína na Colômbia. Segundo trabalho publicado por Casale¹⁶, em 2007, sobre o efeito de glifosato, um herbicida que tem sido utilizado para erradicação aérea de cultivos de coca, foram coletadas amostras de plantações de coca na região de Putamayo (sul da Colômbia), sendo que dos 80 campos de cultivo investigados, 45 eram de ECVI, 34 de ENVN e 1 de ENVT.

1.3. Principais alcaloides presentes nas folhas de coca

A cocaína é, possivelmente, o mais conhecido entre todos os alcaloides tropânicos, principalmente em virtude do seu uso como droga de abuso.

Os alcaloides tropânicos são produzidos por um grande número de plantas da família Erythroxylaceae, e apresentam uma estrutura bicíclica em comum, denominada 8-metil-8azabicyclo[3,2,1]octano. Pode-se considerar que esta estrutura bicíclica é formada pela fusão da pirrolidina e da N-metil piperidina.

Os alcaloides típicos das folhas de coca possuem um núcleo de ecgonina e um ácido tropanol-carboxílico. Os alcaloides naturais são todos ésteres metílicos, pela carboxila da ecgonina, sendo que sua hidroxila alcoólica encontra-se esterificada pelos ácidos benzóico, cinâmico ou truxílico.

O poder anestésico desses alcaloides relaciona-se a esta estrutura em particular, e mostra-se presente somente nos casos em que se encontrem simultaneamente esterificadas a carboxila e a hidroxila por um ácido carboxílico específico, cuja natureza determina suas propriedades fisiológicas. Por esta razão, a

ecgonina, a benzoilecgonina e a metilecgonina não possuem propriedades anestésicas.

O grupo de alcaloides encontrados apenas em folhas de coca pode ser classificado em três tipos básicos, segundo Bacchi¹⁷:

- derivados da ecgonina: cocaína, cinamoilcocaína, truxilinas, benzoilecgonina, metilecgonina (Figura 3);

- derivados da tropina: tropacocaína e valerina, diferenciados dos anteriores pela ausência da carboxila em C-2 e posição α da hidroxila (Figura 3);

- derivados da higrina: higrina e cusco-higrina, caracterizam-se pelo anel N-metil-pirrolidina monocíclico (Figura 4).

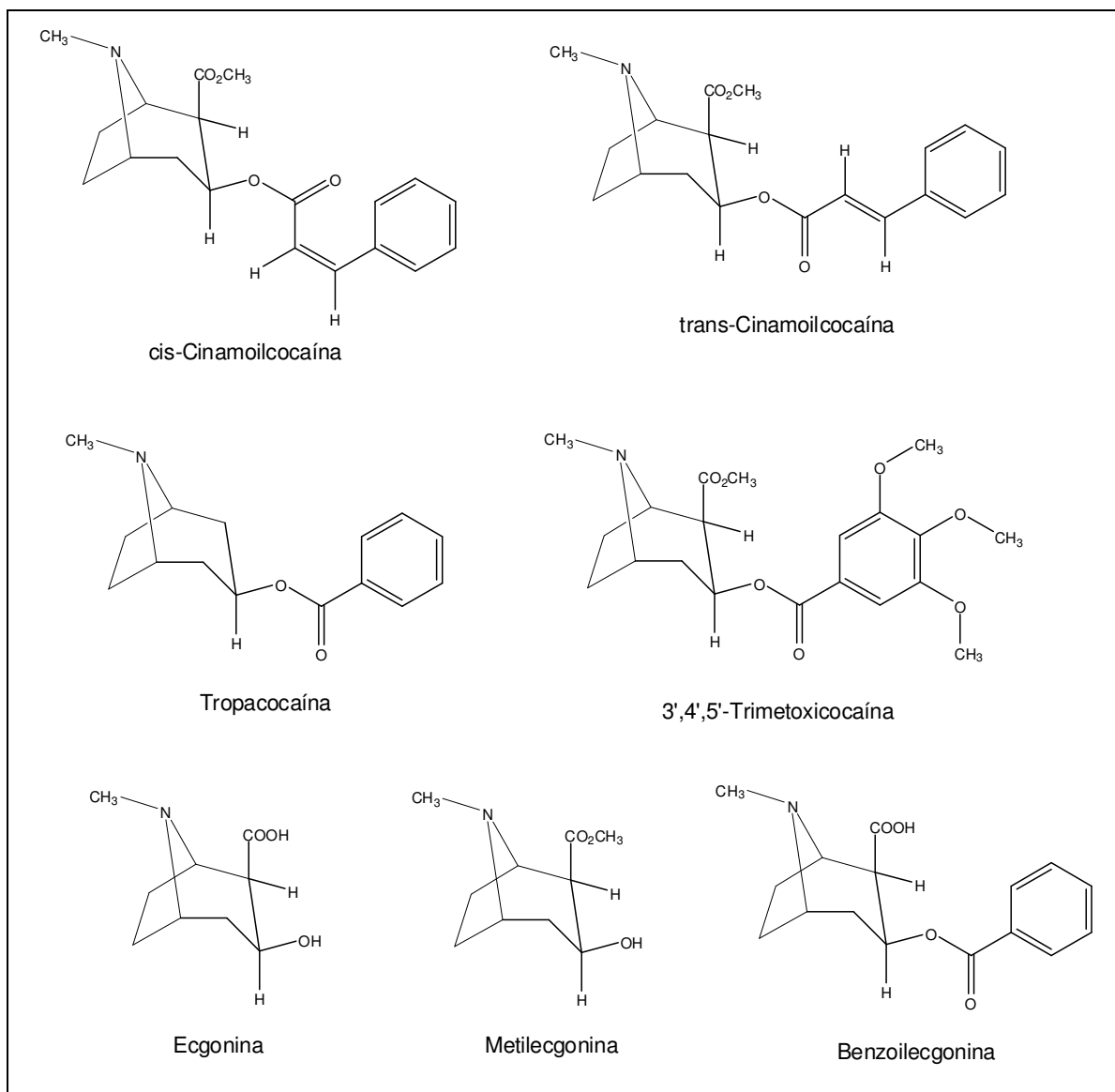


Figura 3 - Principais alcaloides com núcleo tropânico presentes nas folhas de coca.

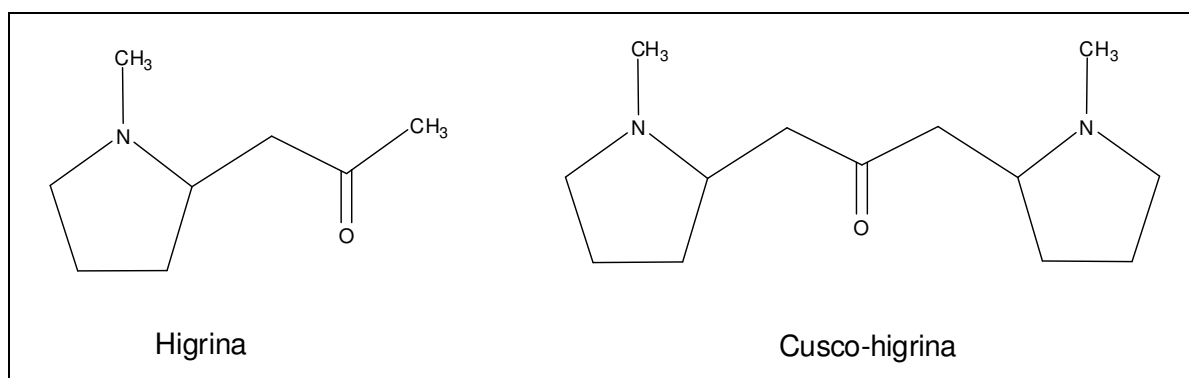


Figura 4 - Higrina e cusco-higrina, alcaloides presentes nas folhas de coca.

Os teores de alguns desses alcaloides, em folhas de coca, em relação à cocaína e ao país de origem, estão sumarizados na Tabela 2, adaptado de Moore¹⁸.

Tabela 2 - Teores de alguns alcaloides, em folhas de coca, em função do país de origem.^a

País	<i>cis</i> -Cinamoilcocaína	<i>trans</i> -Cinamoilcocaína	Tropacocaína	Cuscohigrina
Bolívia	8,6	6,0	0,34	78
Peru	5,8	2,9	0,25	51
Equador	6,6	7,4	1,6	11
Colômbia	28	33	4,9	33

^a Os teores dos alcaloides estão apresentados em % (m/m) relativos à cocaína.

Apesar de estarem presentes em teores significativos nas folhas de coca, nenhuma publicação reportou a presença da higrina e da cuscohigrina em amostras de cocaínaⁱⁱⁱ refinada de origem ilícita. Como estes alcaloides são removidos durante o processo de refino da cocaína, eles não tem tido relevância nas metodologias de caracterização química de amostras de cocaína refinada.

1.4. Truxilinas

As truxilinas são um grupo de 11 estereoisômeros presentes nas folhas de coca, que são extraídas juntamente com a cocaína e outros alcaloides durante o processo de refino. Na Figura 5 a seguir pode-se observar a estrutura química destes alcaloides.

ⁱⁱⁱ O termo “amostra de cocaína” será utilizado frequentemente se referindo a uma mistura de diluentes, adulterantes e alcaloides e a substância cocaína, que na maioria dos casos é a substância majoritária. Trata-se do produto traficado, da forma que foi apreendido pelas forças policiais.

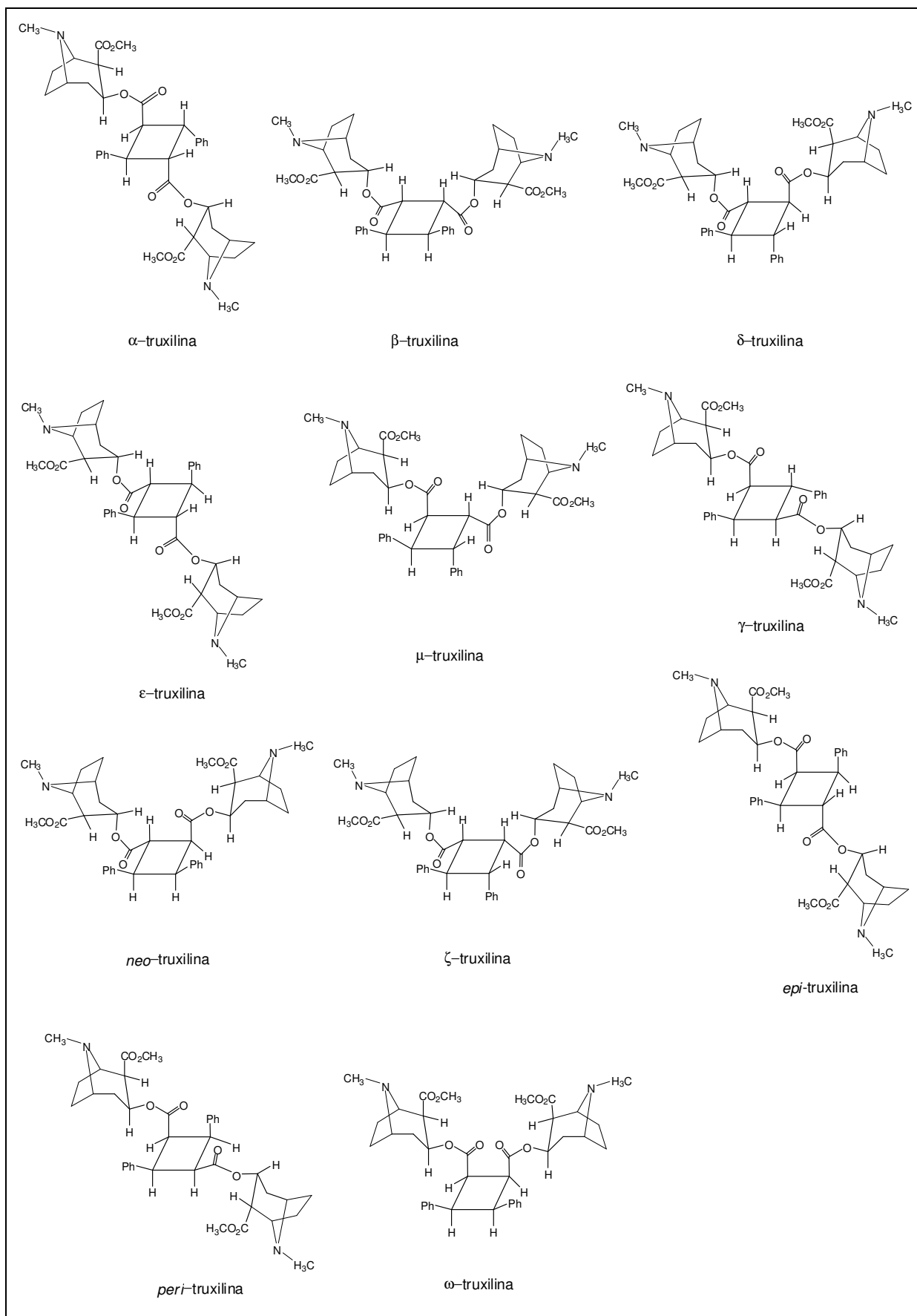


Figura 5 - Estruturas dos 11 isômeros de truxilinas.

Os primeiros compostos truxílicos naturais descritos em plantas foram os alcaloides conhecidos como truxilinas. As mais abundantes, α - e β -truxilinas, foram isoladas e identificadas a partir de folhas de coca cultivadas, no final do século 19. No final da década de 1980, todos os isômeros das truxilinas foram detectados em amostras de cocaína refinada de origem ilícita^{19,20}. Dados quantitativos mais detalhados sobre o teor de truxilinas em folhas de coca de origem sul-americana foram publicados em 1994, por Moore *et al.*¹⁸ (Tabela 3). Tem-se muito pouca informação a respeito do teor de truxilinas e outros alcaloides tropânicos na cocaína traficada no Brasil e em alguns países sul-americanos. Somente alguns resultados preliminares foram publicados por Moore *et al.*²¹ (Tabela 4), que também concluíram que o teor do isômero Mu das truxilinas é insignificante em amostras de cocaína ilícita, e, portanto, não consta nas Tabelas a seguir.

Tabela 3 - Teor de truxilinas em folhas de coca cultivadas na América do Sul.^a

Truxilina	Bolívia	Peru	Equador	Colômbia
Alfa-	0,74	0,87	3,51	20,4
Beta-	0,62	0,74	3,22	14,5
Delta-	0,46	0,50	1,82	9,2
Epsilon-	0,30	0,35	1,36	6,2
Omega-	0,11	0,15	0,84	2,8
Gama-	0,11	0,15	0,64	2,5
Neo-	0,09	0,11	0,61	2,4
Peri-	0,05	0,05	0,33	1,4
Zeta-	0,03	0,05	0,50	1,2
Epi-	0,02	0,02	0,21	0,64
Total	2,53	2,99	13,04	61,2

^aOs teores de truxilinas estão apresentados em % (m/m) relativo à cocaína.

Tabela 4 - Teores médios de truxilinas em amostras ilícitas de cloridrato de cocaína da América do Sul.^{a,b}

País	Média									Total
	Alfa-	Beta-	Delta-	Épsilon-	Omega-	Gama-	Zeta-	Epi-	Peri- + Neo-	
Peru	0,41	0,43	0,21	0,15	0,05	0,04	0,04	0,01	0,07	1,38
Bolívia	0,51	0,49	0,25	0,19	0,07	0,05	0,01	0,02	0,08	1,66
Brasil	0,63	0,54	0,27	0,22	0,09	0,07	0,01	0,02	0,09	1,92
Equador	1,21	1,05	0,46	0,34	0,19	0,15	0,04	0,03	0,20	3,66
Colômbia	1,33	1,07	0,51	0,39	0,23	0,19	0,04	0,03	0,22	4,01

^aTeores de truxilinas estão apresentados em % (m/m) relativo à cocaína.

^bAmostras analisadas: Peru (N=16), Bolívia (N=19), Brasil (N=14), Equador (N=16) e Colômbia (N=52).

As truxilinas são sintetizadas naturalmente nas folhas de coca por meio de uma fotodimerização 2+2 das *cis-* e/ou *trans-*cinamoilcocaína. Essa ciclização é favorecida pela radiação solar ultravioleta (UV) a que a planta está exposta (Figura 6).

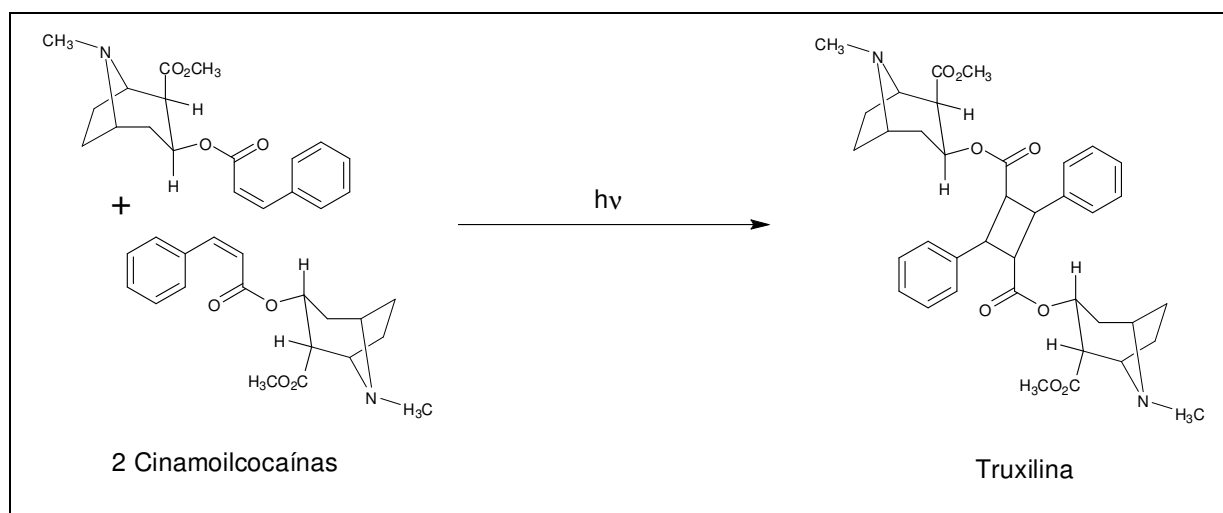


Figura 6 - Formação de truxilinas nas plantas de coca via fotoadição catalisada por UV.

As espécies de *Erythroxylum* que são cultivadas para a produção de cocaína evoluíram e crescem em ambientes de alta incidência de radiação UV. Níveis desta radiação geralmente aumentam com a elevação da altitude e com o decréscimo da

latitude, que é exatamente a situação dos locais onde ocorre a maioria dos cultivos de folhas de coca na América do Sul.

Lydon *et al.*²² demonstraram que ambientes com elevado índice de radiação UV podem alterar significativamente a razão de teores de truxilina/cinamoilcocaína em folhas de *E. novogranatense var. novogranatense*. Os autores confirmaram uma diminuição dos níveis de trans-cinamoilcocaína e de cis-cinamoilcocaína nas folhas das plantas expostas à radiação UV em comparação àquelas não expostas. Já os níveis de truxilinas apresentaram comportamento oposto, ou seja, aumentaram nas folhas das plantas expostas à radiação UV em relação àquelas não expostas. Além disso, a proporção entre truxilinas e cinamoilcocaínas totais nas folhas aumentou significativamente com a maior exposição aos raios UV. Os resultados comprovaram que a radiação UV está envolvida na formação das truxilinas a partir das cinamoilcocaínas.

Este fato explica a razão de o teor de truxilinas ser um importante componente para a determinação da origem geográfica de amostras de cocaína. Assim, a razão de teores de truxilinas/cinamoilcocaínas pode ser uma informação mais útil para determinação de origem das folhas de coca, do que o simples resultado de teor total de truxilinas.

Segundo Costa²³, as truxilinas não possuem propriedades anestésicas e atuam como violentos venenos para o coração e podem ser consideradas graves impurezas da cocaína.

1.5. Propriedades da cocaína

1.5.1. Propriedades físico-químicas

O nome da cocaína definido pela IUPAC^{iv} é éster metílico do ácido [1R-(exo,exo)]-3-(benzoiloxi)-8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxílico. Algumas características físicas e químicas desse alcaloide e de seu sal mais comum estão resumidas na Tabela 5.

^{iv} IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry - União Internacional de Química Pura e Aplicada (UIQPA).

Tabela 5 - Algumas características físicas e químicas da cocaína base e do cloridrato de cocaína.²⁴

Forma de Apresentação	Fórmula Molecular	Massa Molar (g. mol ⁻¹)	p.f. (°C)	pK	Características de solubilidade			
					H ₂ O	MeOH	Et ₂ O	CHCl ₃
Cocaína	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303,4	96-98	pK _b = 5,4	i	s	s	s
Cocaína.HCl	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄ .HCl	339,8	195-197	pK _a = 8,6	s	s	i	s

Notas: s, solúvel; i, insolúvel.

A estrutura éster é importante, pois este grupo funcional é facilmente hidrolisado durante o seu metabolismo e excreção no organismo.

A cocaína em presença de água ou de substâncias alcalinas ou ácidas sofre hidrólise parcial ou total, como mostrado na Figura 7.

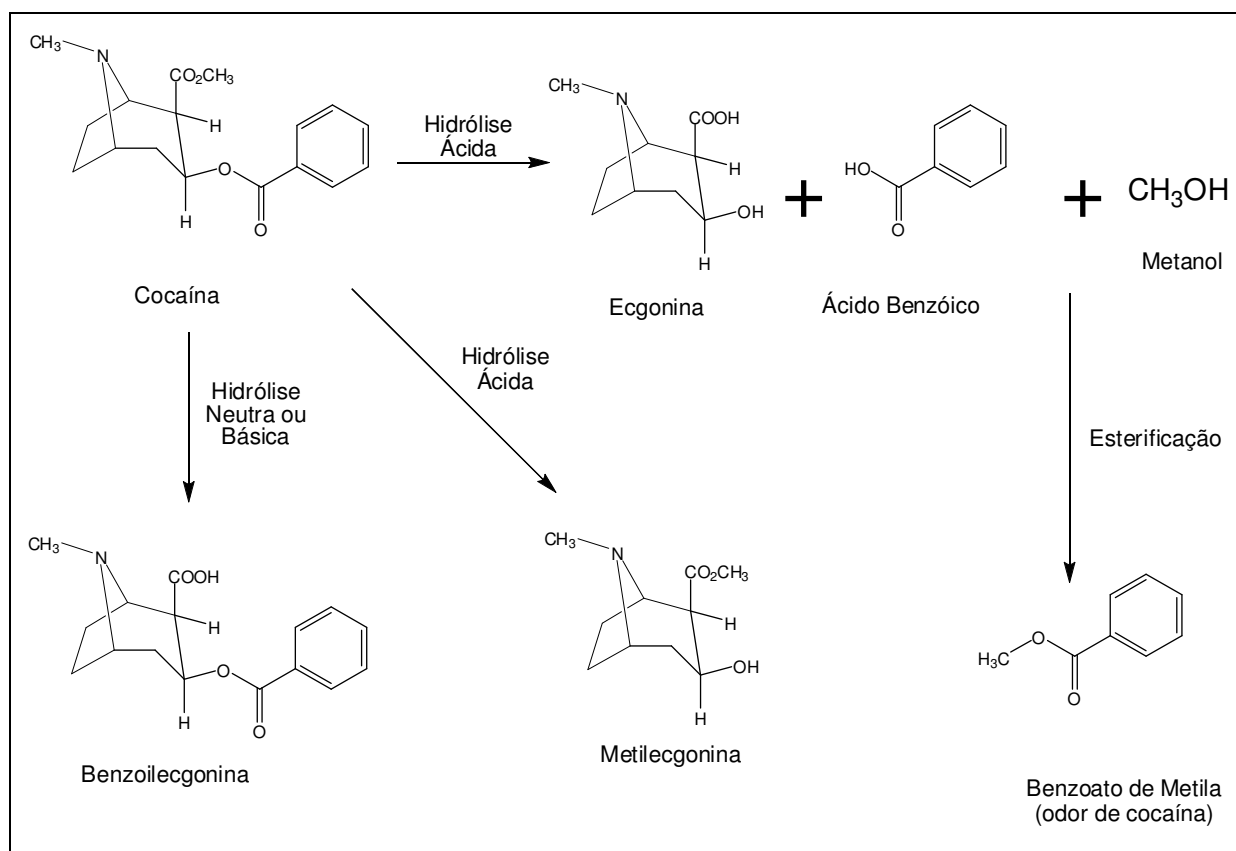


Figura 7 - Reações de hidrólise da cocaína.

A ecgonina, a benzoilecgonina, e a metilecgonina (ou metil éster da ecgonina) podem ser encontradas nas folhas de coca, porém acredita-se que não sejam extraídas juntamente com a cocaína nas etapas do processo de refino. A presença recorrente destes alcaloides nas amostras de cocaína refinada deve-se principalmente às reações de hidrólise da cocaína (Figura 7). Além daqueles alcaloides, essas reações de hidrólise podem gerar metanol, ácido benzóico e benzoato de metila, substância responsável pelo odor característico de cocaína.

A cocaína na forma de base livre é muito mais suscetível ao processo de hidrólise, enquanto o cloridrato de cocaína é mais estável. Este fato pode ser facilmente observado em amostras de cocaína base apreendidas e armazenadas por mais tempo.

A cocaína é uma base fraca, capaz de reagir com soluções aquosas de ácidos, orgânicos ou inorgânicos, formando sais, como o cloridrato de cocaína e o sulfato de cocaína. Essa rápida reação química (Figura 8) é uma das mais eficazes ferramentas para se realizar o isolamento de alcaloides de matrizes complexas, já que, normalmente, as propriedades de solubilidade dos produtos são antagônicas às da base livre correspondente.

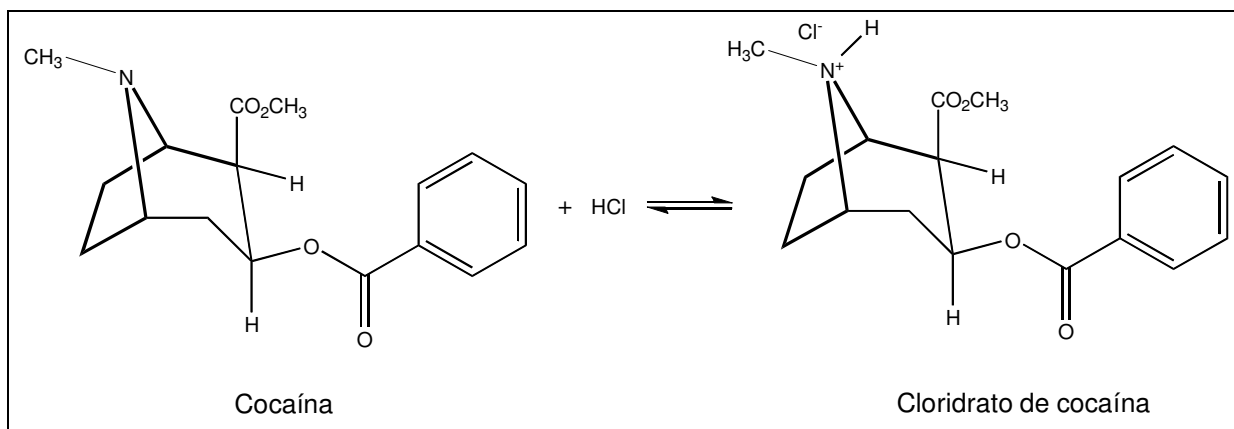


Figura 8 - Formação do cloridrato de cocaína.

1.5.2. Efeitos farmacológicos^{1,17,23}

A cocaína pode ser absorvida a partir de todas as mucosas e membranas. Aplicada localmente, bloqueia o início da condução do impulso nervoso. O átomo de nitrogênio, possivelmente na forma de cátion, combina-se com receptores da membrana celular e bloqueia a condução de íons sódio e potássio, impedindo assim

tanto a geração como a condução do impulso nervoso. A redução no apetite também está relacionada à ação anestésica local.

A cocaína é um potente estimulante do sistema nervoso central (SNC). Seus efeitos estimulantes estão relacionados à sua habilidade de inibir o transportador de dopamina, ligado a membrana (DAT). Ela inibe a monoaminoxidase (MAO), aumentando a noradrenalina e a serotonina, causando, portanto, midríase e vasoconstrição periférica.

Além das ações citadas, a cocaína inibe a recaptura de catecolaminas (norepinefedrina e dopamina) nas terminações adrenérgicas, aumentando suas concentrações na sinapse. Este processo é o principal responsável pela estimulação do sistema cardiovascular e do SNC. No início, ocorre uma sensação de bem estar e euforia. Após pequenas quantidades de cocaína, a atividade motora é bem coordenada, com o aumento da dose podem ocorrer tremores e crises convulsivas. Os centros vasomotor e do vômito podem também participar da estimulação, provocando êmese. Uma dose de 50 mg de cocaína, por via oral, já provoca alucinações. A estimulação central é rapidamente seguida por depressão. Os centros medulares vitais são deprimidos, podendo resultar em morte por insuficiência respiratória.

Em doses elevadas ocorre paranóia, ansiedade, comportamento estereotipado, alucinações visuais, auditivas e táteis. A cocaína por via endovenosa pode causar morte imediata por insuficiência cardíaca, devido à ação tóxica direta sobre o músculo cardíaco.

Após a absorção, a cocaína é degradada pelas esterases plasmáticas e pequenas quantidades são excretadas inalteradas pela urina. A cocaína é rapidamente metabolizada à metilecgonina, bezoilecgonina, e, se etanol estiver presente, à cocaetilenol. Seu tempo de meia vida é de 30 a 90 minutos, sendo usualmente detectada na urina até 36 horas após seu uso. Por esta razão, os efeitos da cocaína no organismo se dissipam mais rapidamente que os das anfetaminas, por exemplo.

1.6. Formas de apresentação da cocaína

A cocaína pode ser consumida e apreendida em algumas formas de apresentação. A seguir serão apresentadas as principais formas de apresentação, conforme definições adotadas pelo SEPLAB/INC/DITEC/DPF:

- **Pasta base** – cocaína na forma de base livre, primeiro produto obtido a partir da extração de folhas de coca. Ao contrário do nome poucas vezes se apresenta na forma pastosa, mas sim em pó e/ou grumos. A preparação para o transporte, que muitas vezes envolve a prensagem do material, pode produzir pedras maiores, possibilitando (em uma análise preliminar) confusão com a forma de apresentação *crack*. A diferenciação é feita utilizando-se métodos cromatográficos: observa-se que o teor de cis e trans-cinamoilcocaína é maior do que na cocaína base e do que no crack. Apresenta coloração bege ou amarelada mais escura. Consume-se na forma fumada pura ou fumada misturada com tabaco ou maconha.
- **Cocaína base** – cocaína na forma de base livre é a pasta base refinada, isto é, que sofreu processos de oxidação ou lavagens (com permanganato de potássio ou etanol, por exemplo), que retiram significativamente os alcaloides cis e trans-cinamoilcocaína. Apresenta coloração amarelada mais clara na forma de pó e/ou grumos. Consume-se na forma fumada pura ou fumada misturada com tabaco ou maconha.
- **Crack** – cocaína na forma de base livre, de coloração marfim ou amarelada na forma de pedras. Sua manufatura envolve uma etapa de aquecimento onde a cocaína base é fundida e, quando resfriada, solidifica formando pedras. Ao contrário da ideia corrente, o crack não é um subproduto do refino, mas sim uma forma de apresentação preparada especialmente para mercados consumidores exclusivos, normalmente apresenta um baixo valor de mercado. Muitas vezes apresenta resíduos de sais de sódio (sulfato, carbonato, bicarbonato) em sua constituição. A definição da forma de apresentação de uma amostra como crack depende da característica da pedra fundida, que não é friável, isto é, não se esfarela com facilidade (como as pedras de pasta base ou cocaína base). Consume-se, principalmente, na forma fumada pura.

- **Merla** – cocaína na forma de base livre, apresentada na forma de pasta branca molhada, com altos teores de água (até 70%) e de sais de sódio (sulfato, carbonato, bicarbonato). O grande teor de umidade propicia grande taxa de decomposição da cocaína, formando majoritariamente benzoilecgonina. A merla é uma forma de apresentação exclusivamente encontrada no Brasil, mais especificamente no Distrito Federal e entorno. Consome-se na forma fumada misturada com tabaco ou maconha.
- **Cloridrato de cocaína** – cocaína na forma de sal, na forma de pó de coloração branca, destinado primordialmente ao uso por aspiração intranasal, também pode ser usado via intravenosa.

A Figura 9 mostra fotografias de três formas de apresentação da cocaína usualmente utilizadas no Brasil, retirado de Almeida²⁵.



Figura 9 - Formas de apresentação da cocaína, (a) pasta base, (b) cloridrato de cocaína e (c) crack.

Dependendo da sua forma de consumo a cocaína leva diferentes tempos para ser absorvida e atingir o cérebro humano: se a folhas de coca forem mastigadas e ingeridas a cocaína leva 20 a 30 minutos; bebidas contendo cocaína dissolvida se ingeridas oralmente leva de 15 a 30 minutos para atingir o cérebro; por via intravenosa leva 30 segundos; pó por via intranasal leva 3 a 5 minutos; fumada na forma de pedra (crack) de 5 a 8 segundos, mais rápido até que no consumo via intravenosa¹.

No início dos anos 1970, produtores sul-americanos de cocaína perceberam que a pasta base de cocaína poderia ser fumada sem destruir seus efeitos eufóricos e estimulantes. A partir de então, os traficantes começaram a produzir o “crack”, o termo vem do inglês “*crackling sound*”, devido ao som de estalos produzido, quando

as pedras são aquecidas. As pedras de crack podem ser produzidas a partir de cocaína na forma de base livre ou de seu sal cloridrato. (Figura 13)

A cocaína fumada na forma de crack atinge o cérebro tão rapidamente que causa efeitos muito intensos antes de ser prontamente metabolizada. Esta rápida variação da concentração de cocaína no cérebro gera um desejo dramático pela droga e um padrão de uso de compulsão extrema.

Conforme mostrado na Tabela 5, o crack, que está na forma de base livre, apresenta um ponto de fusão mais baixo, por isso pode ser aquecido facilmente em um “cachimbo”, e vaporizado a baixas temperaturas para ser fumado. A cocaína base livre é mais facilmente absorvida pelas células gordurosas do cérebro, causando uma ação mais intensa. Os usuários também são capazes de tomar uma dose mais alta de cocaína em um curto período de tempo, em virtude da grande área superficial dos pulmões.

1.7. Processos de obtenção da cocaína a partir das folhas de coca¹⁰

Os procedimentos de obtenção da cocaína a partir das folhas de coca normalmente seguem duas etapas principais:

- a) extração da cocaína por imersão das folhas de coca em soluções aquosas ácidas ou alcalinas ou diretamente em solventes orgânicos;
- b) processos de purificação baseados em etapas de precipitações e solubilizações sucessivas, com o objetivo de branquear a cocaína e aumentar seu grau de pureza.

Tais procedimentos de extração e purificação, independentemente de suas particularidades individuais, são conhecidos como *refino da cocaína*, e também podem incluir as transformações da cocaína em suas diversas formas de apresentação.

As etapas de refino podem ser executadas por diferentes laboratórios clandestinos localizados longe das plantações de coca, e podem até estar em países diferentes. Também podem existir situações onde nem todas as etapas do refino até a obtenção do cloridrato de cocaína são executadas, de modo que podem

ser comercializadas tanto a pasta base quanto a cocaína base para o mercado consumidor.

Há uma grande variedade de produtos químicos capazes de atuar com eficiência em cada uma das etapas de refino, e que, portanto, poderiam substituir os reagentes mostrados na Figura a seguir. A produção ilícita de cocaína envolve, preferencialmente, solventes e reagentes mais baratos e de pronta disponibilidade, isto é, com a escassez de determinado reagente, os traficantes utilizam outro. Os processos descritos nos fluxogramas a seguir (Figuras 10 a 14) são considerados os mais tradicionais e antigos descritos na literatura especializada.

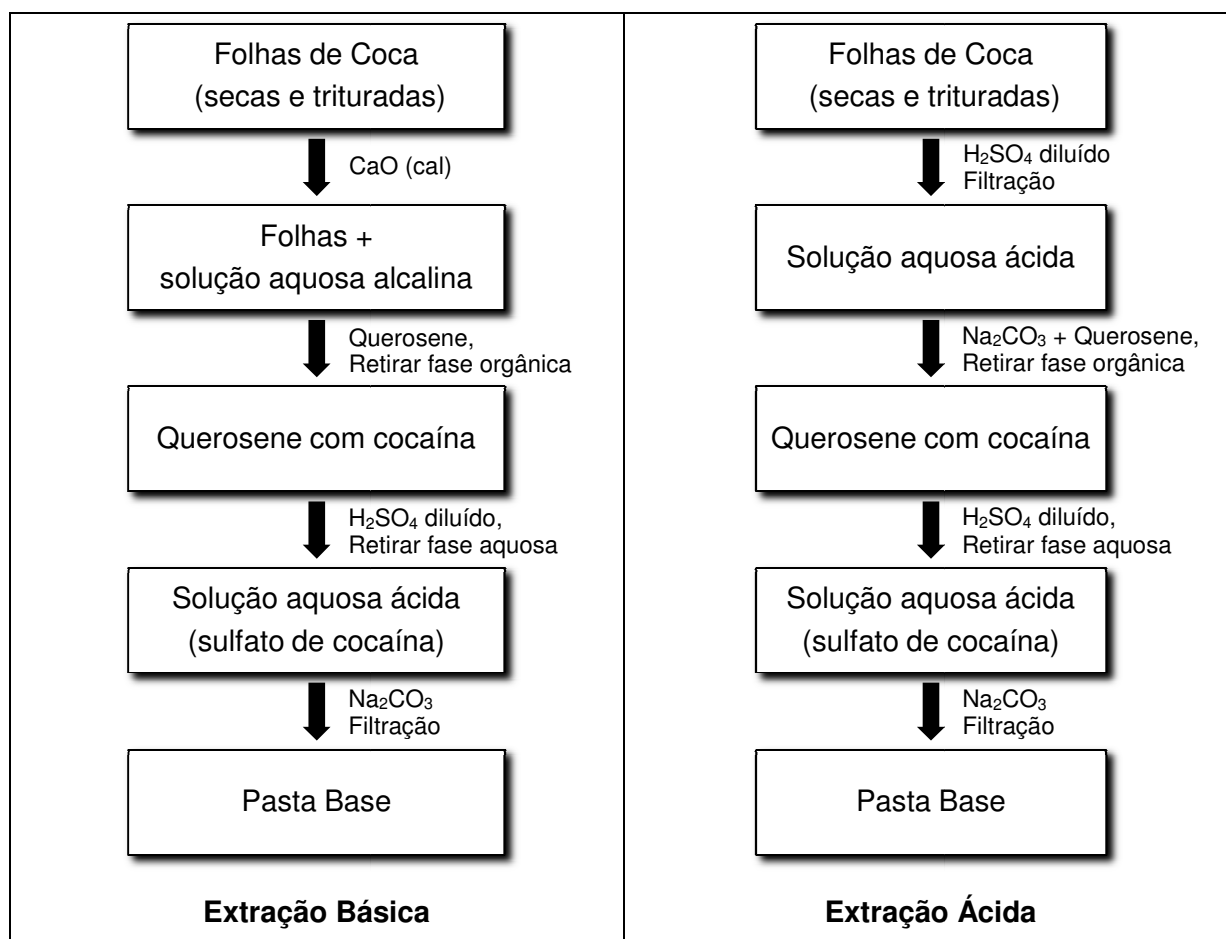


Figura 10 - Produção da pasta base de cocaína.

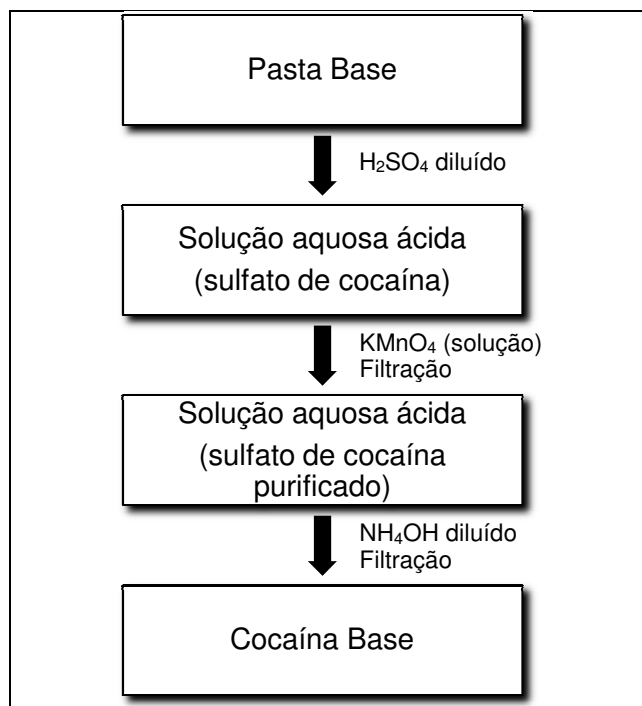


Figura 11 - Produção da cocaína base.

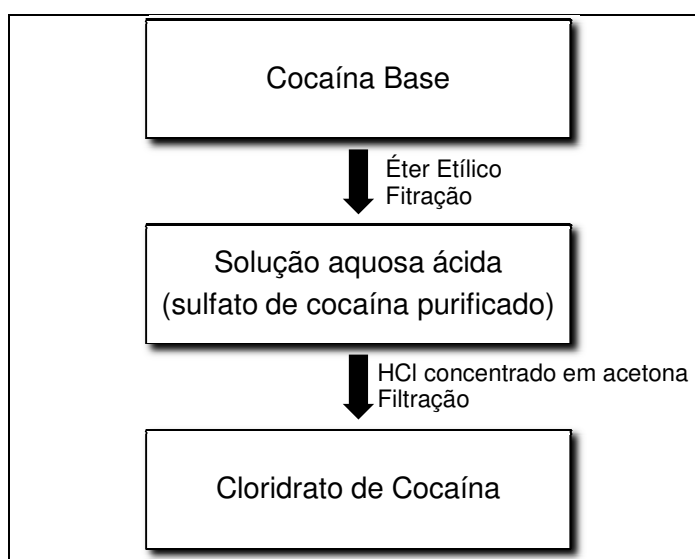


Figura 12 - Produção do cloridrato de cocaína.

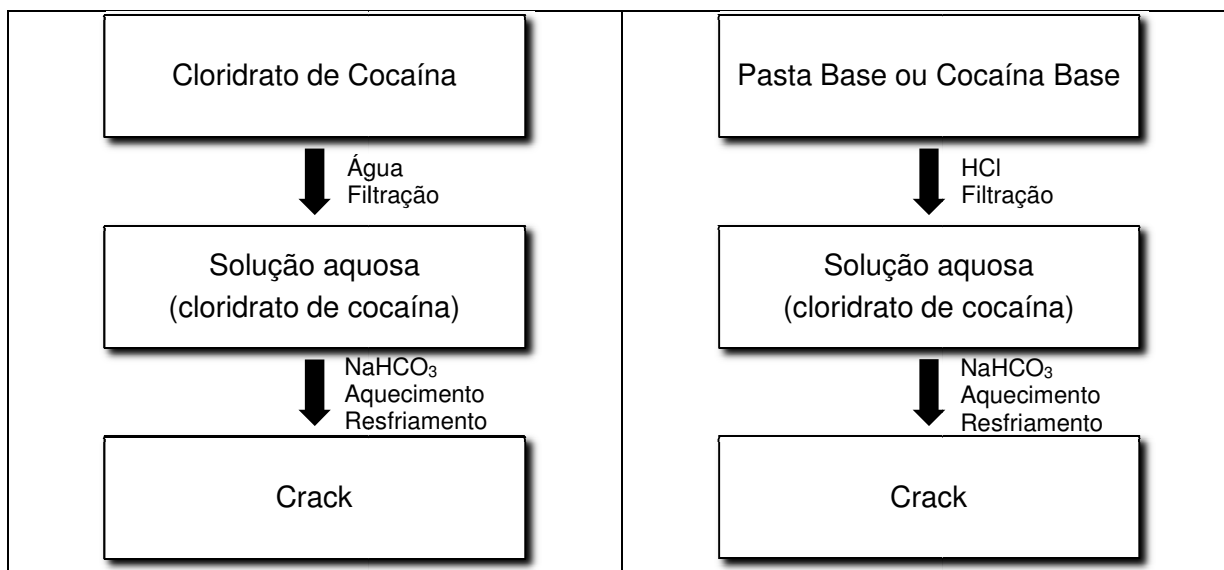


Figura 13 - Produção do crack.

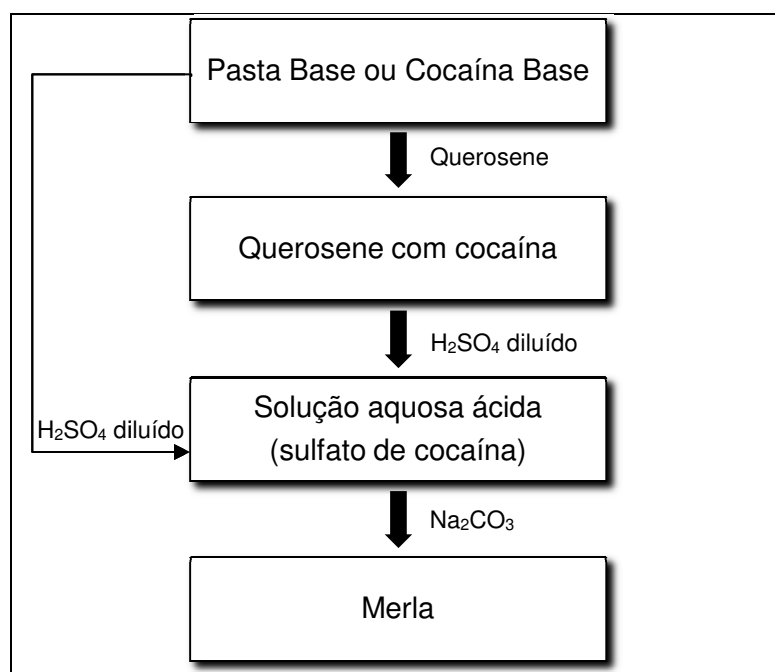


Figura 14 - Produção da merla.

A produção de cocaína base a partir de pasta base é realizada por meio de uma reação de oxidação (Figura 11), uma etapa de purificação, com o objetivo de extrair a cis e trans-cinamoilcocaína e branquear a amostra para torná-la mais atraente para os consumidores. Neste processo, as cinamoilcocaínas são transformadas em ecgonina, que é facilmente separada da cocaína em virtude das suas diferenças de solubilidade. No entanto, quando se utiliza permanganato de

potássio (KMnO_4) a cocaína também pode sofrer oxidação, conforme dois trabalhos publicados^{26,27} em 1991, em que foram detectados subprodutos deste processo. Através da oxidação da cocaína são formados dois subprodutos principais *N*-formilcocaína e norcocaína (Figura 15). Além disso, pela oxidação da cocaína podem ser formados ecgonina, benzoilecgonina e metilecgonina, porém a principal fonte destes alcaloides nas amostras de cocaína refinada é a hidrólise.

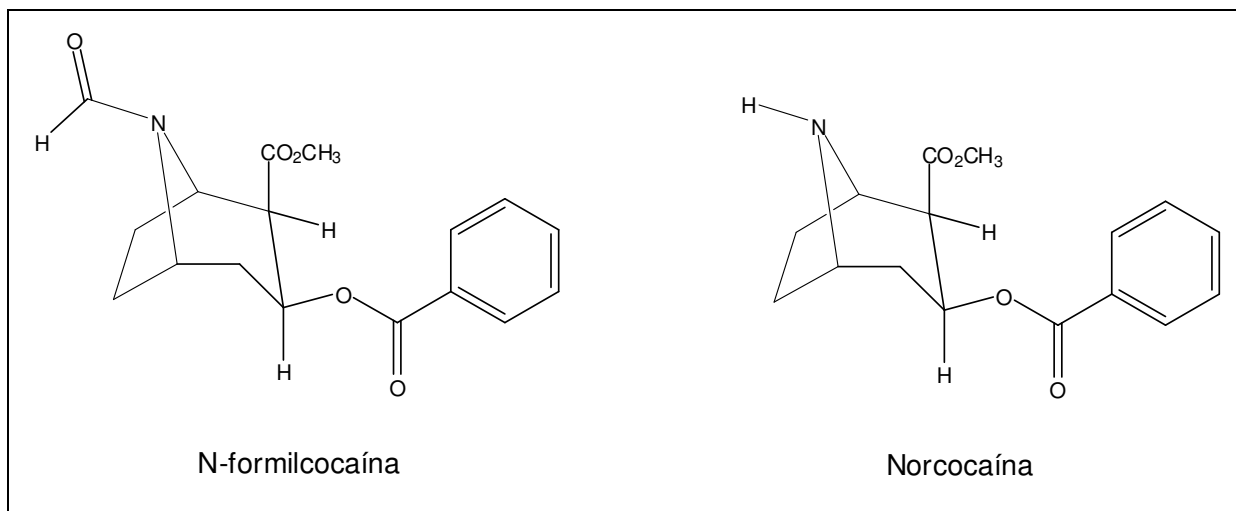


Figura 15 - Alcaloides formados durante a oxidação da cocaína.

1.8. Adulterantes e diluentes encontrados em amostra de cocaína ilícita

Diversas substâncias são adicionadas pelos narcotraficantes à cocaína com o objetivo de aumentar a sua massa, visando a proporcionar maior margem de lucro no comércio da droga.

Os adulterantes são substâncias com efeito farmacológico, que podem potencializar ou mimetizar algum dos efeitos da cocaína no usuário. Já os diluentes são inativos, ou seja, são substâncias sem efeito farmacológico, que visam apenas a diluir a cocaína a ser comercializada.

Qualquer substância química que tenha aparência semelhante à cocaína, principalmente em termos de coloração, pode ser utilizada. Por exemplo, aquelas que possuem propriedade anestésica, sabor amargo, e coloração esbranquiçada são mais difíceis de serem percebidas pelos usuários, já que apresentam propriedades similares ao do referido alcaloide.

Apesar de diversos estudos laboratoriais terem descrito os efeitos da cocaína no corpo humano e no tipo de dependência que ela causa, a cocaína de origem ilícita varia consideravelmente da cocaína de grau farmacêutico, que é usada em ensaios laboratoriais deste tipo. Reações adversas e outros riscos à saúde podem ocorrer quando outro componente farmacologicamente ativo é encontrado junto com a cocaína.

É importante ressaltar que os diversos mercados regionais e mundiais apresentam tendências próprias, com variações temporais e geográficas provavelmente ditadas pela tentativa de ludibriar o consumidor potencializando os efeitos da cocaína e/ou pela disponibilidade e preço de adulterantes e diluentes.

Os adulterantes e diluentes mais comumente encontrados misturados a cocaína podem ser divididos nas seguintes categorias:^{28,29}

- **adulterantes:** benzocaína, cafeína, fenacetina, lidocaína, levamisol, diltiazem, hidroxizina, procaína, tetracaína, prilocaína, efedrina, dipirona, ácido acetilsalicílico, paracetamol (Figura 16);
- **diluentes:**
 - açúcares e derivados: lactose, sacarose, glicose, manitol, amido, sorbitol;
 - compostos inorgânicos: bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, carbonato de cálcio, sulfato de cálcio, sulfato de magnésio, sulfato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de magnésio, borato de sódio, ácido bórico;
 - produtos diversos: produtos alimentícios (leite em pó, amido de milho, farinhas em geral).

Um grande número destes adulterantes tem efeitos toxicológicos importantes que podem, em concentrações elevadas, amplificar os efeitos da cocaína. As principais categorias de adulterantes são: estimulantes e anestésicos locais, que são absorvidos pela superfície da mucosa e simulam o efeito da cocaína; e sedativos, que são muitas vezes adicionados à cocaína para reduzir a intensidade de seus efeitos colaterais indesejáveis.

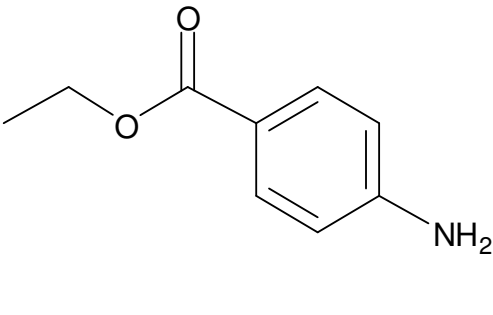
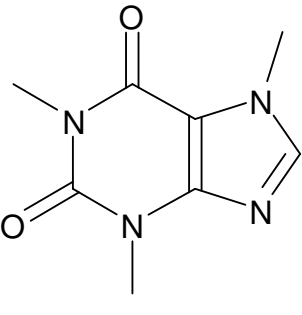
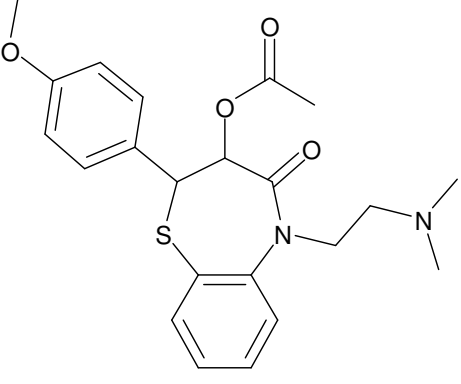
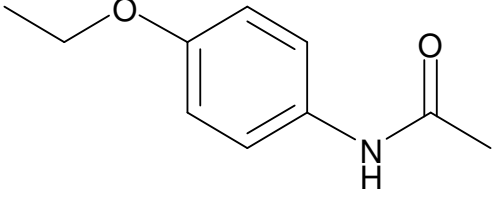
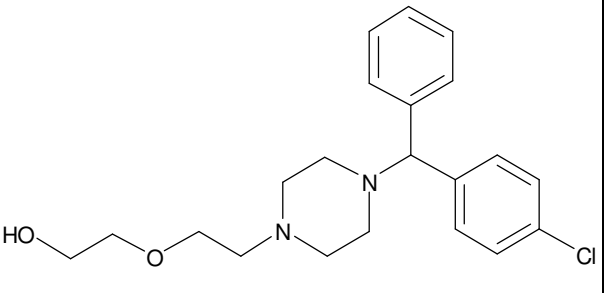
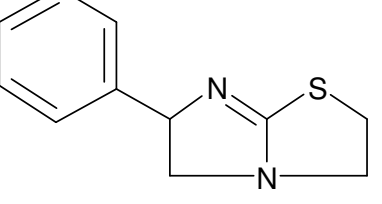
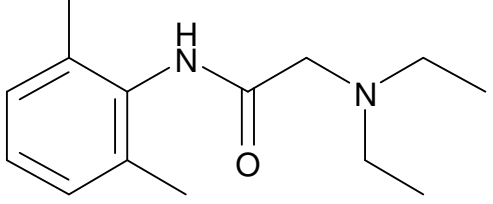
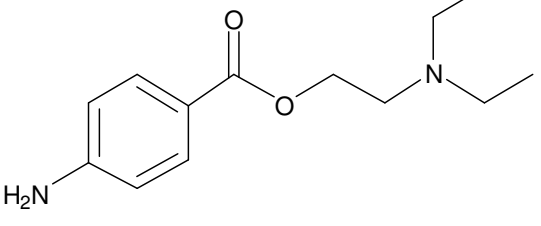
	
Benzocaína (Anestésico local)	Cafeína (Estimulante do SNC)
	
Diltiazem (Anti-hipertensivo)	Fenacetina (Analgésico)
	
Hidroxizina (Anti-histamínico e tranquilizante)	Levamisol (Anti-helmíntico)
	
Lidocaína (Anestésico local)	Procaína (Anestésico local)

Figura 16 – Estruturas químicas dos principais adulterantes de cocaína encontrados no Brasil.

Em diversas províncias da Espanha entre 1985 e 1993, Barrio *et al.*³⁰ selecionaram 9.681 amostras de cocaína apreendidas para análise. Somente amostras de Madrid e Sevilha foram investigadas para detecção de adulterantes. Em 1992 e 1993 a cafeína foi basicamente o único adulterante encontrado. Em anos anteriores (1985 a 1987) a lidocaína foi o principal adulterante, encontrado em 69,6% das amostras em 1985, mas desapareceu nos últimos dois anos do estudo. Piracetam também foi detectado em 10-25% das amostras nos anos de 1986 a 1988.

Fucci e De Giovanni³¹ analisaram 156 amostras de cocaína ilícita apreendidas em Roma, na Itália, em 1996 e 1997. Foram detectados 14 adulterantes diferentes, com destaque para lidocaína, encontrada em 16,5% em 1996 e 12,3% em 1997, para a cafeína encontrada em 11% das amostras em 1996 e 6,1% em 1997 e para a fenacetina encontrada em 6,1% das amostras de 1997. E em 60% das amostras foram detectados diluentes, principalmente açúcares.

Pesquisadores do *Drug Enforcement Administration* (DEA) nos Estados Unidos, em 2004, encontraram pela primeira vez em diferentes amostras de cocaína, hidroxizina em teores variando de 2 a 20%. (Odeneal II *et al.*³²) e diltiazem (na forma de sal cloridrato) em teores variando de 8 a 20% (Peters³³).

Além desta descoberta, a primeira publicação sobre a detecção de levamisol em amostras de cocaína foi em 2007, Valentino e Fuentecilla³⁴ do *Drug Enforcement Administration* (DEA) descreveram que desde 2005 têm sido recebidas para análise amostras contendo levamisol, que se tornou atualmente o principal adulterante encontrado em amostras de cocaína nos EUA.

Brunt *et al.*³⁵ (2009) divulgou resultados do monitoramento de adulterantes adicionados a cocaína na Holanda, no período de 1999 a 2007. Sendo que os principais adulterantes observados foram: benzocaína, cafeína, fenacetina, lidocaína, levamisol, diltiazem, hidroxizina, procaína, e atropina. O principal adulterante encontrado, desde 2003 foi a fenacetina, detectada em 40,6% das amostras em 2007. A partir de 2004, surgiram os novos adulterantes levamisol, diltiazem e hidroxizina, que a cada ano foram encontrados em maior número de amostras. Além disso, outro dado importante é que a porcentagem de amostras de cocaína com adulterantes cresceu de 6,5% em 1999, para 53,6% em 2007.

Maietti *et al.*²⁹ (2009) detectaram diltiazem ou levamisol em níveis de traço, em 44,8% das amostras analisadas, no período de março de 2006 a setembro de 2008 na área de Padova, Itália. Traços de levamisol e hidroxizina já haviam sido observados em amostras de cocaína, em Roma em 2007.³⁶

Em publicação de 2003, 209 amostras coletadas em 2001 no interior do estado de Minas Gerais, sendo 186 positivas para cocaína, foram analisadas por Bernardo *et al.*³⁷. Foram detectados os seguintes adulterantes e diluentes: cafeína (50,2%), lidocaína (65%), prilocaína (11%), carbonatos/bicarbonatos (41,2%), amido (5,2%), glicose (11,5%), sacarose (14,8%), lactose (6,2%) e frutose (3,3%).

Em 2003, Carvalho e Mídio³⁸ analisaram 389 amostras de cocaína ilícita apreendidas na cidade de São Paulo no ano de 1997. Observou-se uma grande variedade de diluentes: carbonatos/bicarbonatos em 19,3% das amostras, silicatos em 13,9%, amido em 5,6%, borato em 3,1%, sulfatos em 2,8% e açúcares em 9,6%. Os principais adulterantes detectados foram lidocaína, procaína e cafeína.

Ainda em 2003 Almeida²⁵, em um estudo detalhado sobre a composição de amostras de cocaína apreendidas em diferentes estados do Brasil, observou que o principal fármaco presente como adulterante no estado do Amazonas (AM) em amostras de cocaína é a fenacetina; mas esse adulterante não foi encontrado em nenhuma das amostras do estado do Rio Grande do Sul (RS), onde a maioria das amostras foi diluída com a lidocaína e cafeína. Em 48,2% do total de amostras do AM foi detectada a adulteração com um ou mais fármacos enquanto no RS este valor foi de 60,9%. A Tabela 6 apresenta um detalhamento dos resultados.

Tabela 6 – Fármacos presentes como adulterantes, em 51 amostras de cocaína.

Fármaco	Amazonas^a	Rio Grande do Sul^b
Cafeína	7,4%	30,4%
Lidocaína	11,1%	56,5%
Benzocaína	7,4%	4,3%
Fenacetina	40,7%	-----
Dipirona	-----	4,3%

^a23 amostras do Rio Grande do Sul.

^b27 amostras do Amazonas.

Além disso, Almeida observou, no mesmo trabalho, que a diluição com açúcares e derivados em amostras de cocaína provenientes do AM é menos comum: esses diluentes estavam presentes em somente 11,1% das amostras. Entretanto, 73,9% das amostras do RS foram diluídas com açúcares e derivados, principalmente com manitol e sorbitol.

1.9. Tráfico de drogas e a legislação brasileira

A área mundial de cultivo de coca diminuiu 28% durante o período de 2000-2009. Em 2009, as plantações de coca na Colômbia representavam cerca de 43% do cultivo mundial, enquanto no Peru representavam 38% e na Bolívia representavam 19%.³⁹

O perfil da produção global de cocaína mudou significativamente nos últimas quatro décadas. A partir do final da II Guerra Mundial até o final da década 1990, quase toda a folha de coca do mundo era cultivada no Peru e na Bolívia, e desde a década de 1970, a maior parte desta produção era refinada em cocaína na Colômbia. As plantações de coca aumentaram ao longo do tempo e, em 1997, o cultivo de coca na Colômbia superou o dos produtores tradicionais, pela primeira vez na história.

Em virtude de diversas ações tomadas pelo governo colombiano, como erradicação em larga escala, o cultivo de coca na Colômbia voltou a cair a partir do ano 2000, chegando a uma área plantada de 62.000 hectares em 2010³⁹, uma redução de 62% no período. Em compensação, no mesmo período as áreas de cultivo de coca aumentaram tanto na Bolívia quanto no Peru, apesar disso a área total de cultivo está apresentando uma tendência de queda. (Figura 17)

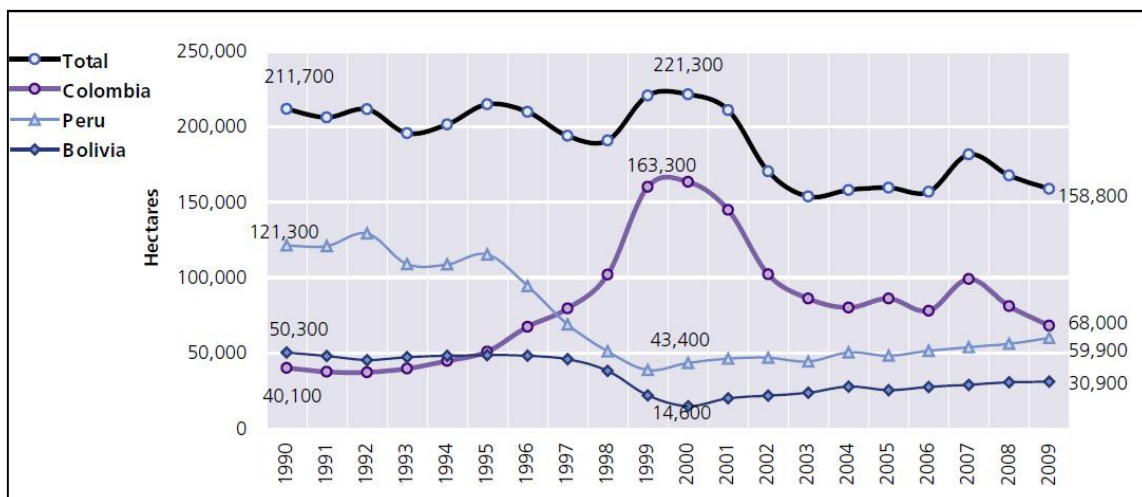


Figura 17 - Cultivo mundial de arbustos de coca, no período de 1990 a 2009. (Fonte: UNODC³⁹)

A produção mundial de cocaína caiu aproximadamente 16% de 2007 para 2008, uma queda mais acentuada quando comparado com quatro anos anteriores em que se observou uma tendência à estabilidade da produção. Pode-se observar, ainda, que a queda da produção de cocaína colombiana foi a responsável por essa redução na produção mundial (Figura 18).

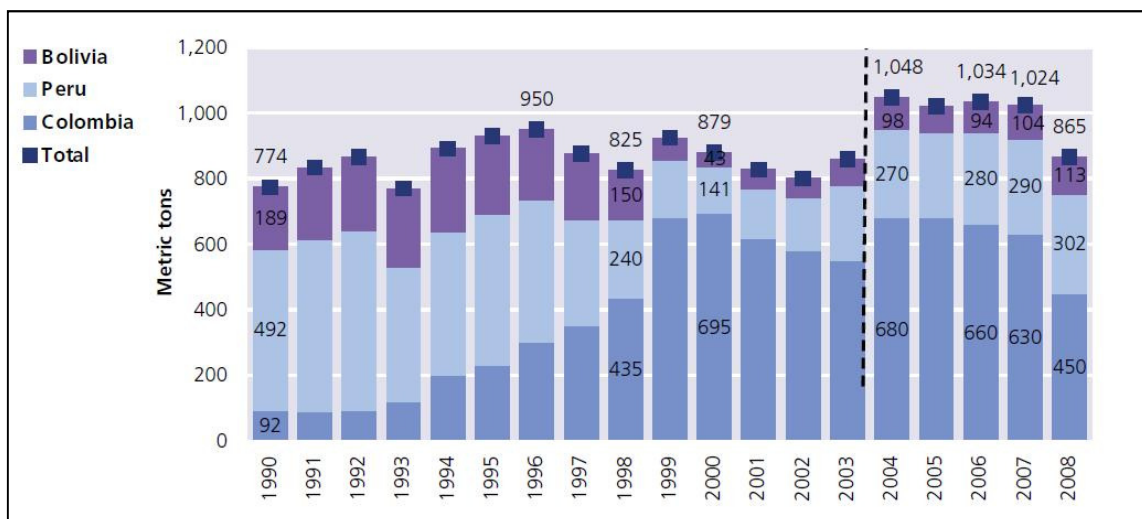


Figura 18 - Produção mundial de cocaína, no período de 1990 a 2008. (Fonte: UNODC³⁹)

Em virtude de sua posição estratégica na América do Sul e de suas enormes fronteiras, o Brasil, apesar de não estar entre os grandes produtores de cocaína, constituiu-se no país mais proeminente de trânsito desta droga nas Américas⁴⁰, em número de casos reportados de apreensões de cocaína na Europa vindas do Brasil.

É principalmente através dos portos e aeroportos brasileiros que a cocaína produzida na Colômbia, no Peru e na Bolívia é remetida para a Europa e África.

Acredita-se que os principais pontos de entrada da cocaína colombiana são os estados do Amazonas e de Roraima, enquanto que da cocaína peruana são os estados da Amazonas e do Acre, e, finalmente, da cocaína boliviana são os estados do Acre, de Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Paraná. O transporte até o território brasileiro é feito por vias terrestre, aérea e fluvial, e principalmente por via terrestre até os grandes centros urbanos e portos brasileiros, de onde a cocaína é exportada, predominantemente por via marítima.

Principais pontos de entrada e saída utilizados pelo narcotráfico e que incluem o território brasileiro são ilustradas na Figura 19.



Figura 19 – Pontos de entrada e saída de cocaína, utilizadas pelo narcotráfico passando em território brasileiro.

O surgimento de novos voos internacionais em diversos aeroportos brasileiros tem aumentado as apreensões de cocaína nestes locais, com traficantes tentando viajar com a droga escondida no corpo ou nas bagagens. Tradicionalmente estas

apreensões são realizadas majoritariamente nos aeroportos internacionais do Rio de Janeiro e São Paulo.

Além de se tratar de grande rota de tráfico internacional, é importante esclarecer que o Brasil constitui-se, para o narcotráfico, em um grande mercado consumidor. Parte da cocaína proveniente dos países produtores destina-se a abastecer o mercado brasileiro. O Brasil é o país com maior número de usuários de cocaína na região das Américas do Sul e Central e Caribe, com 33% do total de usuários desta região⁴⁰.

A Tabela 7, baseada em dados retirados do Sistema Nacional de Dados Estatísticos de Repressão a Entorpecentes (SINDRE) da Polícia Federal (PF), em consulta realizada em junho de 2011, mostra os totais de cocaína apreendidos pela PF nos últimos cinco anos, em cada estado brasileiro. Levando-se em conta as apreensões de cocaína de todas as polícias no Brasil, segundo o World Drug Report 2011⁴⁰, a quantidade de cocaína apreendida no país triplicou de 2004 (8 toneladas) a 2009 (24 toneladas), o que torna o Brasil o 8º país do mundo em quantidade de cocaína apreendida.

Cabe ressaltar, que as amostras analisadas neste trabalho foram originárias dos estados com as maiores quantidades de cocaína apreendida nos últimos anos, além das amostras do Distrito Federal, que foram incluídas pela pronta disponibilidade das mesmas por terem sido apreendidas na mesma cidade do laboratório onde as análises foram executadas.

Tabela 7 - Quantidade de cocaína (kg) apreendida pela PF por estado nos últimos 5 anos.^a

Estado	2010	2009	2008	2007	2006
AC	852	594	632	727	361
AL	134	39	11	32	5
AM	1.837	1.071	3.170	2.696	2.245
AP	48	14	272	30	22
BA	368	22	189	335	186
CE	718	483	640	478	577
DF	225	360	249	537	81
ES	455	213	251	388	170
GO	942	880	365	353	489
MA	136	72	91	223	126
MG	468	73	392	417	214
MS	2.987	2.163	1.678	2.038	1.813
MT	3.570	2.021	3.279	1.660	1.705

PA	291	496	949	1.050	863
PB	95	116	98	840	30
PE	109	123	66	103	81
PI	38	25	73	83	25
PR	1.004	4.386	634	953	923
RJ	759	104	634	390	279
RN	154	34	187	178	125
RO	1.446	2.097	1.211	2.133	953
RR	84	6	43	58	326
RS	870	178	250	476	222
SC	237	193	794	217	359
SE	368	0	55	49	0
SP	8.791	2.623	4.748	2.150	18.269
TO	81	383	371	18	14
TOTAL	11.153	18.768	21.332	18.610	30.463

^aSomadas todas as apreensões cadastradas como Cocaína, Crack, Merla e Pasta Base.

O Brasil como país membro das Nações Unidas (ONU) promulgou por meio do Decreto nº 54.216, de 27/08/1964, a Convenção Única sobre Entorpecentes e aprovou no Decreto nº 162, de 1991, o texto da Convenção contra o Tráfico Ilícito de Entorpecentes e de Substâncias Psicotrópicas de 1988.

A prevenção, a fiscalização, o controle e a repressão à produção, ao uso e ao tráfico ilícito de produtos, substâncias ou drogas ilícitas que causem dependência física ou psíquica, assim relacionadas pelo Ministério da Saúde (MS), são regulamentados pela Lei nº 11.343, de 23/08/2006 e pelo Decreto nº 5.912, de 27/09/2006.

O Ministério da Saúde por meio da Portaria nº 344, publicada em 12/05/1998 pela Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS/MS), aprovou o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial, que regulamentou diversos níveis de controle a que estão sujeitos os produtos, substâncias e drogas listadas e classificadas em seus anexos. As listas de substâncias constantes do Anexo I - Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial - são constantemente atualizadas por resoluções publicadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

A cocaína e a ecgonina encontram-se relacionadas na Lista de Substâncias Entorpecentes (Lista F1), de uso proscrito no Brasil, consideradas capazes de causar dependência física e/ou psíquica, de acordo com a Resolução da Diretoria

Colegiada - RDC nº 21 da ANVISA, de 17/06/2010, em conformidade com a Portaria nº 344-SVS/MS, de 12/05/1998. Todos os sais e isômeros da cocaína e da ecgonina, bem como todos os ésteres e derivados da ecgonina que possam ser convertidos em ecgonina e cocaína, ganham a mesma classificação e são proscritos no Brasil.

A Resolução RDC nº 21/2010-ANVISA/MS, em sua Lista de Plantas que Podem Originar Substâncias Entorpecentes e/ou Psicotrópicas – Lista E, estabelece ainda o controle sobre a planta *Erythroxylum coca* Lam., e ficam também sob controle, todas as substâncias obtidas a partir das plantas elencadas acima, bem como os sais, isômeros, ésteres e éteres destas substâncias.

A Lei nº 10.357 de 27/12/2001, regulamentada pelo decreto nº 4.262 de 10/06/2002, estabeleceu normas de controle e fiscalização sobre produtos químicos que direta ou indiretamente possam ser destinados à elaboração ilícita de substâncias entorpecentes, psicotrópicas ou que determinem dependência física ou psíquica. A Portaria nº 1.274 de 25/08/2003, do Ministério da Justiça, alterada pela Portaria nº 113 de 14/01/2004, submeteu a controle e fiscalização os produtos químicos relacionados nas suas Listas I, II, III, IV e nos seus respectivos Adendos, constantes do Anexo I.

Finalmente, de acordo com a Lista de Insumos Químicos Utilizados para a Fabricação e Síntese de Entorpecentes e/ou Psicotrópicos (Lista D2) constante da Resolução RDC nº 21/2010-ANVISA/MS, estão submetidos a controle 12 reagentes químicos: acetona, ácido clorídrico, ácido sulfúrico, anidrido acético, cloreto de etila, cloreto de metileno, clorofórmio, éter etílico, metiletilcetona, permanganato de potássio, sulfato de sódio e tolueno.

Os órgãos governamentais das políticas nacionais de controle e repressão ao narcotráfico são as polícias civis e militares, subordinadas aos governos estaduais, a Secretaria Nacional Antidrogas (SENAD), a SENASP (Secretaria Nacional de Segurança Pública) a Polícia Federal e a Polícia Rodoviária Federal (PRF), órgãos do Ministério da Justiça.

Dentro desse contexto, a Polícia Federal é responsável pelo combate ao narcotráfico interestadual e internacional, pelo controle das fronteiras do país e pelo

combate a evasão de divisas, sendo todos esses fatores componentes de um problema social maior, que é o consumo e o tráfico de drogas de abuso.

1.10. Perfil químico da cocaína

A investigação da composição química das drogas de abuso pode fornecer informações muito importantes para os órgãos de segurança pública, tais como: a origem geográfica da droga, se diferentes apreensões estão relacionadas quimicamente, o método usado para processar esta droga, os reagentes químicos que estão sendo usados no processo de refino, e os que estão sendo utilizados para diluir ou adulterar a droga^{29,41}.

Conforme mostrado anteriormente, além de consumidor, o Brasil mostra-se também como importante rota de tráfico de cocaína, principalmente para a Europa. Todavia, não existem informações cientificamente embasadas que possam relacionar diferentes apreensões e a origem geográfica do produto de tráfico.

Os programas institucionais de perfil químico de drogas de abuso podem determinar ou indicar a origem geográfica de grande parte das apreensões e de possíveis rotas de tráfico, que, somadas às informações tradicionais de investigação policial, direcionam em quais regiões os órgãos de segurança pública têm que efetivamente concentrar seu combate ao narcotráfico.

Segundo Moore e Casale⁴², esses principais objetivos que são buscados em um programa de perfil químico de drogas de abuso podem ser resumidos da seguinte forma:

- a) **Comparação de amostras** – pode-se correlacionar amostras apreendidas com diferentes traficantes ou em locais e momentos diferentes. As apreensões podem ser ligadas como sendo de um mesmo distribuidor ou de um mesmo lote de produção/refino. Embasando a investigação policial na formação de convicção sobre a estrutura de uma organização criminosa de narcotráfico;
- b) **Origem geográfica** – mais trabalhosa que a comparação entre amostras, e só faz sentido para drogas de origem vegetal, como cocaína e maconha e não para drogas sintéticas. A partir de amostras de referência dos países produtores é estabelecido o perfil químico de amostras de referência

oriundas dos diferentes produtores. Com esse perfil das amostras de referência estabelecido é possível determinar ou indicar a origem geográfica de amostras apreendidas rotineiramente. É importante ressaltar que, sempre que possível é necessário atualizar com novas amostras de referência os perfis químicos de cada localidade, visto que os mesmos podem sofrer variações;

- c) Rotas de distribuição** – por meio da comparação de amostras e da determinação/indicação da sua origem geográfica podem ser construídas rotas de distribuição de drogas de alguma organização criminosa. Se forem apreendidas amostras de drogas correlacionadas (similares) quimicamente, em um determinado período de tempo, em pontos de fronteira, em diferentes estados e em portos/aeroportos, pode-se estabelecer ou ao menos sugerir como determinado traficante realiza a distribuição da droga;
- d) Avaliação dos reagentes químicos** – analisar a composição das amostras de drogas com objetivo de identificar substâncias precursoras ou intermediárias utilizadas no refino ou síntese, para o monitoramento dos produtos químicos utilizados no processo de produção das drogas. Um resultado muito claro desta abordagem é subsidiar os órgãos de controle de produtos químicos no país, como a Polícia Federal, a reforçar ou direcionar o controle mais restrito de determinados insumos químicos mais comumente encontrados em amostras de determinadas drogas;
- e) Diferenciação entre droga de origem ilegal ou legal** – esta abordagem não é muito importante no Brasil, já que as principais drogas de abuso traficadas no país são de origem exclusivamente ilícita. Porém, tem por objetivo determinar se determinada amostra de droga apresenta compostos minoritários em sua composição que permitam a diferenciação entre a origem ilegal ou a legal, por exemplo, na indústria farmacêutica;
- f) Determinação de adulterantes com efeitos toxicológicos** – muitas impurezas encontradas nas drogas de abuso têm efeitos sérios na saúde humana, a caracterização das mesmas é importante para que os órgãos de vigilância sanitária e hospitais possam tomar medidas que minimizem os efeitos destas substâncias em usuários de drogas.

A cocaína é um dos principais focos de investigação dos laboratórios forenses no mundo, incluindo o Serviço de Perícias de Laboratório e Balística (SEPLAB) do Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal, em Brasília. Um primeiro estudo sobre diluentes e adulterantes presentes e comparação de amostras de cocaína já foi realizado em nosso laboratório em 2003²⁵.

Muitas impurezas estão presentes nas amostras de cocaína traficada e comercializada ilicitamente. Em geral este perfil de impurezas reflete a história desta amostra. Durante o processo de refino da cocaína, alcaloides minoritários naturais, presentes na folha de coca, são extraídos juntamente com a cocaína. Além destes componentes naturais, uma amostra de cocaína é composta tipicamente por: resíduos de solventes, subprodutos gerados durante o processo de refino, e substâncias químicas utilizadas para diluir e adulterar a cocaína. Desta forma, estas impurezas podem ser divididas em quatro categorias²⁹:

- a) **Compostos naturais:** co-extraídos a partir do material vegetal bruto, durante o processo de extração da cocaína;
- b) **Impurezas e subprodutos:** formados durante toda a cadeia de produção e distribuição da droga:
 - i. Formadas durante os processos de refino (incluem os alcaloides produtos de oxidação, e os solventes oclusos);
 - ii. Formadas durante o transporte, distribuição e armazenagem (incluem os alcaloides produtos de degradação da cocaína). Um dos processos químicos mais comuns é a hidrólise da cocaína, que usualmente ocorre nos grupos éster, em que são formados benzoilecgonina, metilecgonina, ecgonina e ácido benzóico, conforme mostrado na Figura 7. Outros alcaloides também podem ser hidrolisados nos grupos éster, como cinamoilcocaína, tropacocaína e truxilinas.
- c) **Diluentes e adulterantes:** adicionados em qualquer ponto da cadeia de distribuição da droga, inclui os fármacos que são adicionados à droga;

- d) Artefatos gerados durante os procedimentos de análise:** o analista deve estar sempre atento a este tipo de interferentes artificiais para desconsiderá-los. Uma de suas fontes é o injetor do cromatógrafo gasoso.

Os programas de perfil químico de cocaína, já estabelecidos em grupos forenses de outros países, e publicados na literatura, realizam uma série de análises instrumentais, que juntas fornecem informações para a determinação da origem geográfica da cocaína e comparação de amostras com objetivo de correlacioná-las.

As abordagens analíticas para estabelecer o perfil químico de cocaína já foram detalhadamente revisadas em duas publicações da década de 1990, por Moore e Casale⁴² (1994) e Chiarotti e Fucci⁴³ (1999), porém desde então alguns avanços foram publicados, e serão detalhados a seguir.

1.10.1. Teor e forma de apresentação da cocaína

A determinação do teor de cocaína e a diferenciação da sua forma de apresentação entre sal cloridrato ou base livre são as primeiras etapas deste processo.

Inúmeras metodologias são utilizadas para quantificação de cocaína⁴⁴: cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada com detector de ultravioleta/visível (UV/Vis)⁴⁵ ou com espectrômetro de massas (CLAE/EM), cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (CG/DIC)⁴⁶ ou com detecção por massas (CG/EM), e por espectroscopia na região do ultravioleta (UV), entre outros.

É um parâmetro muito importante para que seja possível comparar adequadamente os teores dos alcaloides minoritários, naturais das folhas de coca, em diferentes amostras, já que esses alcaloides devem ser expressos em teores relativos ao teor de cocaína para normalizar a comparação entre amostras muito adulteradas (com baixo teor de cocaína e outros alcaloides) com amostras sem adulteração ou diluição. Além disso, se a amostra encontra-se excessivamente adulterada ou diluída pode ser inviável realizar a comparação de amostras. E, finalmente, o teor de cocaína pode ser usado como mais um parâmetro de comparação entre amostras.

A determinação da forma de apresentação da cocaína pode ser realizada facilmente através de testes de solubilidade com água e éter etílico e testes de precipitação com ácidos e bases. Esta diferenciação também pode ser realizada por Espectroscopia na região do Infravermelho (FT-IR) ou por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), em virtude da grande diferença entre os pontos de fusão do cloridrato de cocaína e da cocaína base.

1.10.2. Alcaloides minoritários

A identificação de alcaloides minoritários em amostras de cocaína refinada vem sendo descrita na literatura desde pelo menos 1973, quando Moore⁴⁷ descreveu a identificação da *cis* e *trans*-cinamoilcocaína neste tipo de matriz. Desde então inúmeros artigos tem sido publicados sobre a descoberta de novos alcaloides de coca: naturais ou subprodutos do refino, ou com enfoque para determinação de perfil químico de amostras de cocaína baseado nos teores ou áreas cromatográficas destes alcaloides.

Os principais alcaloides utilizados para determinação de perfil químico de cocaína tem sido: a ecgonina, benzoilecgonina, metilecgonina, norcocaína, N-formilcocaína, *cis* e *trans*-cinamoilcocaína, tropacocaína e trimetoxicocaína. Uma das primeiras publicações sobre comparação do perfil cromatográfico de alcaloides por CG/EM e CLAE foi publicada em 1988 por LeBelle⁴⁸, e o artigo mais recente, de 2011, em que alcaloides, adulterantes de cocaína e a própria cocaína são analisados na mesma corrida por CG/EM.⁴⁹ Na Tabela 8, a seguir, estão resumidos os principais artigos científicos sobre perfil químico de cocaína, com enfoque na determinação dos seus principais alcaloides, excetuando-se as truxilinas, que serão tratadas no próximo item.

Tabela 8 - Resumo das principais publicações científicas sobre perfil químico baseado nos alcaloides de cocaína.

Ano	Autor	Técnica	Condições	Analitos
1987	Lurie ⁵⁰ <i>et al.</i>	CLAE/UV	C18 gradiente, DAD: 215 e 277nm	Ácidos cinâmicos, truxílicos e truxínicos, benzoilecgonina, <i>cis</i> e <i>trans</i> -cinamoilcocaína.

1988	LeBelle ⁴⁸ <i>et al.</i>	CLAE/UV CG/EM	C8 isocrático 220 e 280 nm DB-5	Benzoilecgonina, cis e trans-cinamoilcocaína, metilecgonina, tropacocaína e adulterantes. Comparação de amostras
1991	LeBelle ⁵¹ <i>et al.</i>	CLAE/UV CG/DIC CG/EM	C8, DAD, 280nm DB-5	Cis e trans-cinamoilcocaína. Comparação de amostras
1991	Casale e Waggoner ⁵²	CG/DIC CG/EM	DB-1701 Derivatização BSA	Ácidos cinâmico, truxílico e truxínico, benzoilecgonina, cis e trans-cinamoilcocaína, ecgonina metilecgonina, <i>N</i> -formilcocaína norcocaína, tropacocaína. Comparação de amostras
1992	Janzen ^{53**} <i>et al.</i>	CG/DNP	HP-1	cis e trans-cinamoilcocaína, norcocaína, tropacocaína, benzoilecgonina*, metilecgonina.* Comparação de amostras
1992	Ensing ⁵⁴ <i>et al.</i>	CG/DIC	OV-1 e OV-17 (colunas de vidro)	Cis e trans-cinamoilcocaína, <i>N</i> -formilcocaína, norcocaína, tropacocaína, éster metílico da <i>N</i> -benzoilnorecgonina. Comparação de amostras
1993	Casale ⁵⁵ <i>et al.</i>	CG/DIC e CG/EM	DB-1701 Derivatização BSA	Ácidos cinâmico, truxílico e truxínico, benzoilecgonina, cis e trans-cinamoilcocaína, ecgonina, metilecgonina, <i>N</i> -formilcocaína norcocaína, tropacocaína, éster metílico da <i>N</i> -benzoilnorecgonina. Comparação de amostras

1993	Moore e Cooper ⁵⁶	CG/DCE CG/EM	DB-1701: Derivatização HFBA	Ecgonina, éster metílico da N-norecgonina, éster metílico da N-formilnorecgonina, éster metílico da N-benzoilnorecgonina, hidroxicoaínas, metilecgonina, N-nortropacocaína, N-nortropina, norcocaína. Comparação de amostras
1993	Moore <i>et al.</i> ⁵⁷	1) CG/DCE 2) CG/DIC	1) DB-1701: Derivatização HFBA 2) DB-1701: Derivatização BSA	1) Éster metílico da N-benzoilnorecgonina, éster metílico da N-norecgonina, hidroxicoaínas, metilecgonina, N-nortropacocaína, norcocaína, 2) Benzoilecgonina, cis e trans-cinamoilcocaína, ecgonina, metilecgonina, norcocaína, tropacocaína. Comparação de amostras
1994	Casale e Moore ⁵⁸	CG/DIC CG/EM	DB-1	3,4,5-trimetoxicocaína, 3,4,5-trimetoxitropacocaína, 3,4,5-trimetoxi-cis-cinamoilcocaína, 3,4,5-trimetoxi-trans-cinamoilcocaína.
1994	Janzen ⁵⁹ <i>et al.</i>	CG/DNP	HP-1	Cis e trans-cinamoilcocaína, norcocaína, tropacocaína. Comparação de amostras.
2007	Casale <i>et al.</i> ⁶⁰	CG/DIC CG/EM CLAE/EM RMN	DB-1701 - MSTFA DB-1 C18	Novos subprodutos, gerados pela oxidação incompleta das cinamoilcocaínas.

2007	Lociciro <i>et al.</i> ⁶¹	CG-DIC	DB-1: derivatização MSTFA	Benzoilecgonina, cis e trans-cinamoilcocaína, ecgonina, metilecgonina, tropacocaína, norcocaína, 3,4,5-trimetoxicocaína. Comparação de amostras.
2011	Esseiva <i>et al.</i> ⁴⁹	CG-EM	HP-5MS: derivatização MSTFA	Benzoilecgonina, cis e trans-cinamoilcocaína, ecgonina, metilecgonina, tropacocaína, norcocaína, 3,4,5-trimetoxicocaína. Comparação de amostras.

*compostos não foram usados na comparação de amostras.

**os autores concluíram que as razões de tropacocaína, norcocaína, e cinamoilcocaína versus cocaína são estáveis, e não se alteram pelas condições de armazenagem e adulterantes.

1.10.3. Teor total de truxilinas

Como discutido anteriormente, o teor de truxilinas presente nas folhas depende da variedade de *Erythroxylum* e das condições ambientais da região de cultivo^{22,62}. Assim, o emprego de técnicas cromatográficas de caracterização e determinação do teor total de truxilinas, isto é da soma dos teores dos 10 isômeros de truxilinas, revelou-se uma metodologia muito promissora como ferramenta analítica para auxiliar na determinação da origem geográfica de amostras de cocaína ilícita refinada, bem como para comparações de amostras de cocaína de diferentes apreensões.

A metodologia atualmente mais utilizada para determinação do teor total de truxilinas em cocaína refinada, por conseguir resolver todos os isômeros cromatograficamente, envolve reações de redução e derivatização, com posterior análise por cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons (CG/DCE).^{21,63}

Também foram publicados alguns métodos para determinação de truxilinas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)^{20,50}, por eletroforese capilar (EC)⁶⁴, por cromatografia de camada delgada (CCD)⁶⁵, e por cromatografia gasosa

acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), por meio de derivatização. Porém nenhum destes métodos revelou ser mais eficiente do que o método de CG/DCE.

As truxilinas são substâncias não cromatografáveis por CG, já que possuem grande massa molecular e sofrem degradação térmica no injetor, gerando a formação de metil ecgonidina e ácido truxílico (Figura 20). Por isso a solução mais viável e em uso atualmente para análise quantitativa envolve a derivatização das mesmas, para somente então serem analisadas por CG.

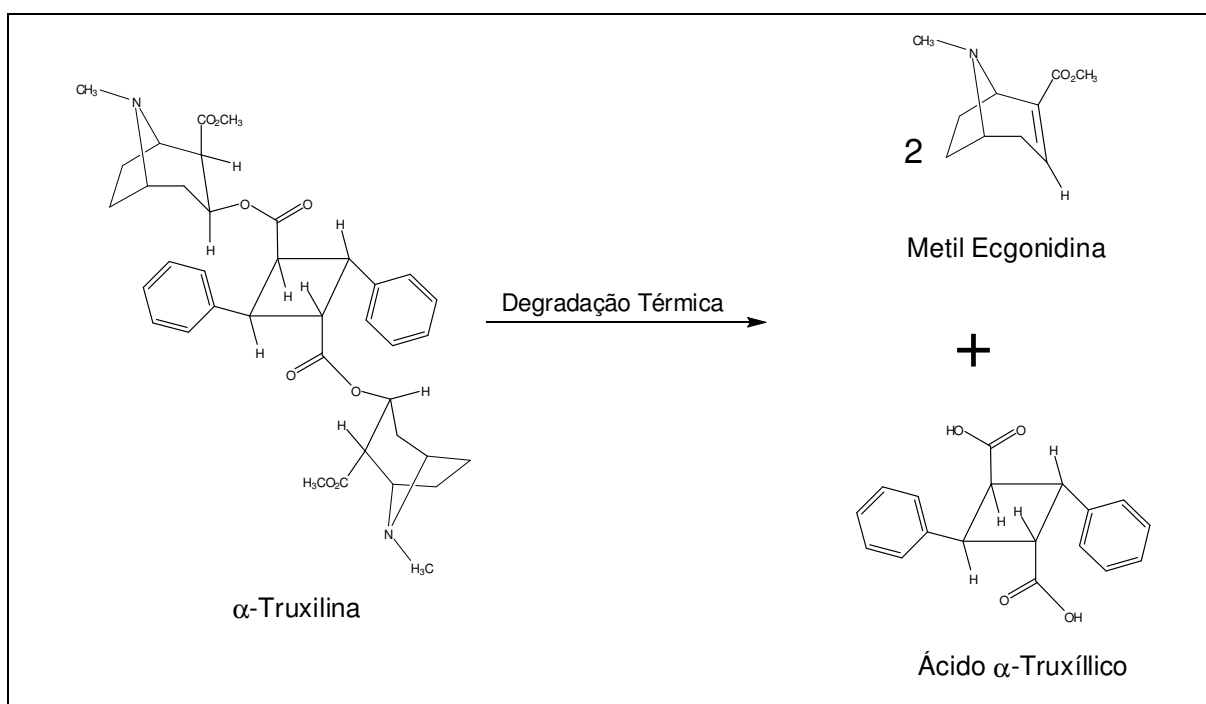


Figura 20 - Formação de artefatos de truxilinas por degradação térmica, que ocorre em sistemas de cromatografia gasosa, sem derivatização prévia.

O limite de detecção (LOD) de 1-5 pg (2-10 ng/mL) foi obtido na metodologia de quantificação de truxilinas após redução com hidreto de lítio e alumínio (LiAlH_4), derivatização com anidrido heptafluorobutírico (HFBA) e análise por CG/DCE.²¹

1.10.4. Análise de Razão Isotópica (RI/EM)

A partir da década de 1990, a determinação das proporções relativas dos isótopos naturais de carbono e nitrogênio, principalmente, tem sido utilizada como uma metodologia promissora para o estabelecimento da origem geográfica de drogas ilícitas, e para análises comparativas entre amostras, sendo que as primeiras publicações referiam-se à determinação da origem geográfica da heroína.

A quantidade relativa de isótopos de carbono, nitrogênio, oxigênio e hidrogênio absorvidos em uma planta e nos produtos derivados dela é caracterizada pelo ciclo de fotossíntese e pelo ciclo metabólico.

Além disso, as condições ambientais, tais como temperatura, umidade e composição isotópica de dióxido de carbono na atmosfera em que a planta cresceu podem influenciar na sua composição isotópica.

Em uma das primeiras publicações sobre análises de cocaína por RI/EM, Ehleringer *et al.*⁶⁶ demonstraram pela primeira vez que as origens geográficas de heroína e cocaína podem ser identificadas com base nas variações naturais das razões de isotópicas de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, que estão relacionadas às variações das condições ambientais das áreas de cultivo.

Como existem grandes diferenças ambientais nas regiões de plantio de coca da América do Sul, foi investigada a variação de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ na cocaína extraída de folhas de coca de plantas de diferentes países ao longo da Cordilheira do Andes. Combinando-se os teores de truxilinas e trimetoxicocaína com as análises de razão isotópica foi possível determinar o país de origem das amostras de diferentes regiões da América do Sul. Usando esta abordagem analítica, os autores foram capazes de prever com precisão o país de origem de 96% das 200 amostras analisadas.⁶²

Segundo Casale⁶⁷, em mais um estudo sobre razão isotópica, ocorre um fracionamento isotópico mínimo de carbono na transformação de cocaína base para cloridrato e os valores não foram afetados por diferentes metodologias de preparação. Além disso, o fracionamento de ^{15}N em cocaína refinada só é significativo quando toda a cocaína ainda não foi precipitada.

1.10.5. Perfil de solventes oclusos.

Como visto anteriormente, durante o processo de refino, as etapas de purificação envolvem a extração da cocaína da planta, sua conversão de pasta base para cocaína base e em alguns casos sua conversão para cocaína na forma de sal cloridrato, nesta última etapa quando ocorre a precipitação do cloridrato de cocaína, na forma de uma matriz cristalina, os solventes usados no processo ficam oclusos.

Também já foram detectados solventes oclusos em amostras de cocaína na forma de base livre, embora as principais publicações se restrinjam a determinações de solventes oclusos em amostras de cloridrato de cocaína.

Os solventes mais comuns detectados em amostras de cocaína são: acetona, tolueno, éter etílico, acetatos de etila e propila, metil-etil-cetona, metil-isobutil-cetona, hidrocarbonetos alifáticos leves (componentes do éter de petróleo), xilenos e metanol.

A técnica de cromatografia gasosa utilizando a amostragem por *headspace* (HS-CG) é a mais indicada para a determinação de compostos orgânicos voláteis e semivoláteis em amostras nos estados sólido, líquido e gasoso. No *headspace* estático a amostra é aquecida em um frasco selado e os gases são removidos do frasco para detecção, e é a escolha ideal para analitos voláteis, tais como solventes ou aditivos residuais de baixa massa molecular.

Este tipo de análise resulta em um cromatograma rico em picos e bem característico, que revela quais solventes foram utilizados no processo de refino, podendo até indicar o tipo de processo de refino que a cocaína sofreu, além de ser possível estabelecer uma correlação entre amostras.

Morello e Meyers⁶⁸ conseguiram detectar e quantificar, por HS-CG/EM, metil-etil-cetona, hexanos, tolueno, benzeno, acetona, diclorometano, xilenos, éter etílico, ciclohexano e acetato de etila, em amostras de cloridrato de cocaína de origem ilícita.

Em 2008, Dujourdy e Besacier⁶⁹ executaram um estudo detalhado de perfil de solventes oclusos em amostras de cloridrato de cocaína, por HS-CG/DIC. Foram detectados praticamente os mesmos solventes do trabalho de Morello e Meyers, porém foi apresentada uma análise estatística de dados para permitir uma comparação entre amostras, para correlacioná-las ou não de maneira mais robusta e confiável.

1.11. Aspectos analíticos

As técnicas instrumentais utilizadas durante o desenvolvimento deste trabalho serão brevemente discutidas a seguir, com enfoque para a sua importância para a

determinação de alcaloides e adulterantes, especialmente os encontrados em amostras de cocaína.

1.11.1. Cromatografia Gasosa

Neste trabalho a cromatografia gasosa foi aplicada na quantificação de cocaína nas amostras analisadas, utilizando detecção por ionização em chama (CG/DIC). E para determinação de truxilinas, utilizando detecção por captura de elétrons (CG/DCE), conforme o método original já publicado, a ser comparado com o novo método proposto por CLAE/EM.

A CG é aplicável a uma ampla variedade de compostos de interesse forense, toxicológico, farmacêutico, industrial, ambiental e clínico. Se um composto possui volatilidade suficiente para que suas moléculas passem para a fase gasosa a altas temperaturas (300-400 °C) sem se decomporem, então este composto pode ser provavelmente analisado por CG. É uma técnica utilizada na separação de substâncias gasosas ou volatilizáveis. A volatilização dos compostos pode ser conseguida aumentando-se a temperatura no local de injeção da amostra e (ou) na coluna. Em alguns casos, é preciso derivatizar esses compostos transformando-os em outros termicamente mais estáveis

A utilização de cromatografia gasosa na determinação de alcaloides tropânicos remonta ao início da década de 1960, bem anterior à época em que os primeiros métodos de CLAE foram desenvolvidos, assim como ocorre na análise de drogas de abuso, em que o uso da CG é anterior ao de CLAE. Como descrito nos itens 1.10.2 e 1.10.3, o uso de cromatografia gasosa em determinações de alcaloides em métodos de perfil químico é predominante nas publicações científicas da área de química forense.

O desenvolvimento das colunas capilares com revestimentos quimicamente ligados melhorou muito a análise de CG para alcaloides tropânicos, já que elas são mais adequadas para a separação de alcaloides em temperaturas mais elevadas. Além disso, atualmente as colunas capilares estão em aproximadamente todas as metodologias desenvolvidas para cromatografia gasosa.

A detecção por ionização em chama é a mais largamente utilizada para cromatografia gasosa, já que responde a praticamente todas as classes de compostos. O efluente que sai da coluna é misturado com hidrogênio e a mistura é

queimada em um pequeno bocal em um fluxo de ar. Uma corrente polarizada é aplicada entre este bocal e um eletrodo situado acima dele. Quando um analito elui da coluna ele é queimado na chama e gera íons que alteram a corrente entre os eletrodos e produz um sinal. A sensibilidade é moderada, com uma boa faixa de linearidade de até seis ordens de magnitude. A resposta é dependente do número de carbonos na molécula, mas a resposta é reduzida se oxigênio e nitrogênio estiverem presentes. O DIC é de fácil operação e limpeza e quando utilizado com colunas capilares, é praticamente livre de manutenção.

O detector por captura de elétrons consiste em uma pequena câmara com um par de eletrodos e uma fonte radioativa, usualmente ^{63}Ni , colocada próxima ao cátodo para ionizar o gás carreador. O potencial aplicado aos eletrodos produz uma corrente de fundo. Substâncias captadoras de elétrons chegando à câmara removem alguns dos elétrons e diminuem a corrente do detector. O DCE é um detector seletivo com uma sensibilidade muito alta para compostos que tenham uma alta afinidade por elétrons, para muitos compostos esta sensibilidade é maior que o de um EM.

1.11.2. Técnicas de Derivatização Química

As principais razões para o uso da derivatização química em análises cromatográficas são: o aumento da sensibilidade na detecção dos compostos e a melhora do comportamento cromatográfico dos mesmos, o que pode ocorrer por meio de alguns fatores como atribuição de volatilidade, melhora da estabilidade térmica, melhora da resolução cromatográfica (separação de picos), melhora da quantificação. Além dessas razões, inúmeras outras podem ser citadas, como possibilitar uma detecção seletiva, e, no caso de espectrometria de massas, produzir deslocamento de massa no espectro de massas ou modificação na fragmentação, para permitir análise de grupos funcionais ou a elucidação estrutural de determinado composto desconhecido.

Esta abordagem analítica é aplicada principalmente aos compostos que possuem prótons lábeis em heteroátomos com grupos funcionais, tais como RNH_2 , $\text{R}_1\text{R}_2\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ e $-\text{SH}$. Em resumo, as três principais reações de derivatização que são comumente usadas para análise de drogas, são a siliilação, a acilação e a alquilação.

Derivatizações são muitas vezes realizadas para ajudar a alcançar uma melhor condição de análise. Para trazer o tempo de retenção para uma faixa mais desejável, drogas de baixa massa molecular podem ser convertidas em ésteres ou amidas utilizando-se ácidos ou alcoóis de massas moleculares mais altas, enquanto que as drogas de maior massa molecular podem ser convertidas em ésteres ou amidas com maior volatilidade utilizando-se ácidos ou alcoóis de menor massa molecular contendo flúor.⁷⁰

Os anidridos fluorados (TFAA, PFPA, HFBA, AA, TCAA) são reagentes derivatizantes utilizados para acilação de compostos, amplamente utilizados para converter alcoóis, fenóis, aminas em seus derivados fluoracilados. Enquanto o aumento da volatilidade do analito, através da introdução de átomos de flúor, pode ser desejável em algumas aplicações, a elevada volatilidade dos produtos resultantes pode evitar o uso de temperaturas mais altas no CG, o que pode ser desejável para a determinação de analitos de baixa massa molecular, tais como anfetamina e metanfetamina.

Além disso, a introdução desses átomos de flúor aumenta muito o limite de detecção nos casos em que a detecção por captura de elétrons é utilizada. Por exemplo, a DCE foi utilizada para se obter 2 pg como limite de detecção de derivados heptafluorobutíricos de morfina⁷⁰.

No caso da determinação de truxilinas por CG/DCE através da derivatização com anidrido heptafluorobutírico (HFBA), alguns motivos foram citados por Moore²² para a escolha da derivatização com HFBA: as truxilinas são difíceis de serem cromatografadas diretamente por CG, em virtude da sua grande massa molecular e instabilidade térmica (conforme citado no item 1.10.3); a derivatização de truxilinas com BSA ou MSTFA gera produtos trimetilsililados (TMS), que não são suficientemente eletrofílicos para provocar uma boa resposta do detector de DCE, e não são completamente separados por CG; e o fato de ao se ligarem dois grupos heptafluorobutíricos (HFB) em cada molécula das dez truxilinas, formando produtos di-HFB, ou derivados di-heptafluorobutíricos dos dióis truxilil e truxinil (di-O-HFB), isso gera um aumento da sensibilidade da técnica.

1.11.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE/EM)

A maioria das publicações de análises por CLAE/EM na área forense é da área de toxicologia, envolvendo análises de drogas de abuso em diferentes matrizes biológicas, como sangue, urina e cabelo.

Na toxicologia forense a técnica de CLAE/EM é extremamente importante e complementar à cromatografia gasosa. É possível analisar diversos compostos sem a necessidade de derivatização e em muitos casos obtêm-se limites de detecção menores que os de outras técnicas disponíveis, o que é muito importante nessa área.

Esta crescente demanda nas análises de toxicologia forense é resultado das suas inúmeras aplicações, por exemplo, no controle *anti-doping* de atletas, na investigação de uso de drogas de abuso em acidentes de trânsito, envenenamentos, homicídios, suicídios, determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos, análises de contaminação ou uso de drogas por trabalhadores. Esta demanda possibilitou um rápido desenvolvimento das análises de toxicologia forense e de aplicações para as técnicas de CLAE/EM e CLAE/EM/EM, que começaram a ser utilizadas em análises de perfil químico de drogas.

Análises de perfil químico ou de *screening* em toxicologia forense são tradicionalmente executadas em equipamentos de CG/EM, em virtude das vastas bibliotecas eletrônicas de espectros de massas disponíveis, porém limitações como instabilidade térmica, falta de volatilidade ou necessidade de derivatização tem aumentado o uso da técnica de CLAE/EM.

Em relação ao uso de CLAE na análise de alcaloides tropânicos, em recente artigo de revisão Aehle e Dräger⁷¹, constataram que desde a primeira separação dos alcaloides tropânicos: atropina, apoatropina, escopolamina e homatropina, em 1973, a análise desse grupo de alcaloides por cromatografia líquida de alta eficiência tornou-se cada vez mais comum. Essas separações são geralmente realizadas em colunas de fase reversa, como a maioria das aplicações desenvolvidas para CLAE. Além disso, diversos métodos de separação foram construídos e aplicados para os alcaloides tropânicos, em preparações farmacêuticas, em material vegetal, e na área forense. A baixa absorção de luz UV pela maioria desses alcaloides e quase

nenhuma absorção da luz UV de muitos de seus produtos de degradação geram baixa sensibilidade na suas detecções em CLAE equipado com detector de UV de comprimento de onda fixo convencional ou com detectores de arranjo diodos (DAD).

Nos últimos anos, muito progresso foi feito na identificação e quantificação dos alcaloides tropânicos por CLAE, o que está relacionado principalmente a quatro motivos diferentes⁷¹:

- à detecção do analito por espectrometria de massa em comparação com a detecção por UV supera as limitações de sensibilidade;
- à CLAE acoplado a EM, em particular EM/EM, oferece mais confiabilidade na identificação;
- à cromatografia líquida de ultra eficiência substituindo o CLAE convencional reduz o tempo de análise e mantém a separação satisfatória;
- à diversificação dos materiais para cromatografia líquida, tais como colunas com novos materiais de empacotamento, permitiram melhor separação e economia de tempo no preparo de amostras.

Nos últimos anos tem se desenvolvido a técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC) ou cromatografia líquida de pressão ultra-alta (UHPLC) que possibilita tempos de análise muito menores com resolução melhor ou comparável as análises tradicionais. É baseado em colunas com diâmetros internos de 1 mm ou 2 mm e partículas de diâmetros menores que 3,5 μm , equipamentos que suportem pressões de até 1.300 bar, com fluxos próximos aos utilizados em CLAE convencional e temperaturas altas para o compartimento de coluna, acima dos 60°C. Já em 2005⁷² foi demonstrado o alto poder de separação do UPLC com colunas C18 híbridas com partículas de 1,7 μm para determinação de anfetaminas, esteroides anabolizantes, perfil químico de MDMA e *screening* de drogas de abuso.

É importante ressaltar que em todos os artigos citados neste item a fonte de ionização escolhida para as análises de CLAE/EM foi a de ionização por eletronebulização, também conhecida como *electrospray* (ESI), que é a fonte de ionização mais utilizada atualmente, embora diversas outras sejam empregadas há

mais de uma década, como MALDI, APCI, APPI, enquanto outras têm sido desenvolvidas, como EASI, vEASI e DESI.

a) Analisador de massas Triplo Quadrupolo (QqQ)

Análises de *screening* com analisadores de massas híbridos do tipo EM/EM, como triplo quadrupolo, são realizadas utilizando o modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM), isto é o primeiro quadrupolo monitora os íons-precusores, no segundo quadrupolo esses íons são fragmentados, e no terceiro quadrupolo os íons-produtos são monitorados, o que a torna uma técnica de alta seletividade e sensibilidade.

Há mais de dez anos, grande parte dos métodos propostos para detecção de drogas e seus metabólitos em matrizes biológicas, que utilizam CLAE/EM/EM, é baseada em uma varredura (*screening*) dos compostos alvo, neste período dezenas de trabalhos têm sido publicados sobre este tipo de abordagem de *screening* em toxicologia forense.

Em uma publicação de 2005⁷³, é proposta a identificação de 301 substâncias simultaneamente em uma corrida de 33 minutos, por CLAE/EM/EM. Cinco anos mais tarde um novo artigo utilizando o mesmo modelo de espectrômetro de massas aumentou o número de substâncias identificadas simultaneamente para 700.⁷⁴

A maioria dessas metodologias desenvolvidas para toxicologia forense inclui em suas varreduras os alcaloides cocaína e seus principais metabólitos benzoilecgonina e metilecgonina e a maior parte dos adulterantes citados no item 1.8.

Duas publicações recentes propuseram a aplicação de cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada com espectrometria de massas *tandem* (UPCLAE/EM/EM) em modo MRM para o estabelecimento do perfil químico de amostras de heroína.^{75,76}

b) Analisador de massas por Tempo de Voo (TOF)

Trabalhos recentes têm desenvolvido métodos usando cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massas por tempo de voo (CLAE/TOF-EM) para análises qualitativas e quantitativas.

A importância de se utilizar TOF para análises de drogas está relacionada com a determinação exata da massa molecular dos analitos, com precisão de até quatro casas decimais. A capacidade de determinar a relação massa/carga (m/z) de um íon com precisão de até 5 ppm⁷⁷ permite a determinação de uma fórmula molecular única baseada na massa atômica dos átomos constituintes, ou pelo menos sugere poucas fórmulas possíveis. A capacidade de se obter uma massa observada próxima da massa teórica esperada permite a identificação positiva do analito, removendo-se efetivamente os efeitos da matriz, reduzindo-se o ruído e o número de outras possibilidades para a identificação. Resumindo, quanto melhores forem a exatidão e a precisão da medição de massa molecular, menor será o número de compostos teoricamente possíveis. Atualmente, a maior parte dos instrumentos de CLAE-TOF são capazes de oferecer precisões de massa menores que 5 ppm. Além disso, quando operados em modo de varredura completa, esses instrumentos podem fornecer sensibilidades significativamente melhores quando comparados com instrumentos do tipo triplo quadrupolo⁷⁸. Também têm-se observado alguns desenvolvimentos importantes em *hardware* e *software* que levaram a um aumento da robustez geral de CLAE-TOF, por exemplo, a facilidade de permitir a introdução simultânea de uma solução de referência, que serve para garantir a obtenção de massas moleculares exatas durante toda a corrida analítica, utilizando fontes de *electrospray* com duas sondas, uma para a amostra e outra para a solução de referência.

Além da determinação da massa molecular exata e proposição de possíveis fórmulas moleculares a partir da massa obtida, espectrômetros de massa do tipo TOF apresentam resolução suficiente para que seja observada a distribuição isotópica das massas das substâncias, isto é a contribuição dos isótopos dos átomos (¹³C, ²H, ¹⁷O, ¹⁸O, ¹⁵N, ³³S, ³⁴S, ³⁷Cl, ⁸¹Br, etc) que compõem a molécula em questão. (Figura 21)

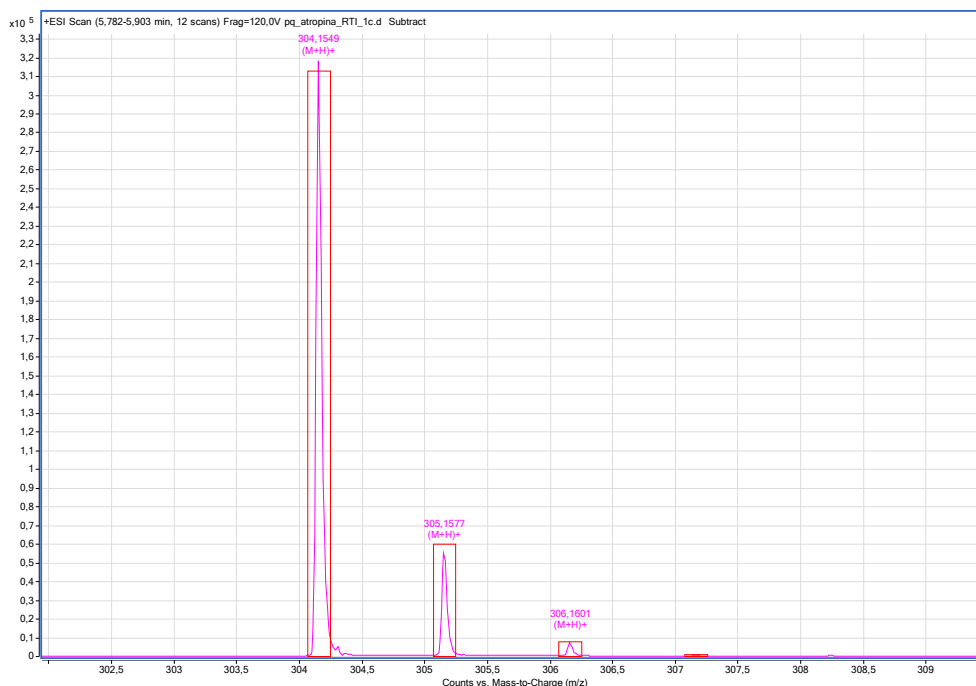


Figura 21 - Espectro de massas da cocaína em instrumento de CLAE/TOF-EM, os íons $[M+H]^+$ esperados para a distribuição isotópica da cocaína apresentam os seguintes m/z com as respectivas abundâncias relativas: m/z 304,1543 (abund. 100%); 305,1576 (abund. 17,41%); 306,1601 (abund. 2,24%); e 307,1627 (abund. 0,21%).

Esta análise permite a redução ainda maior do número de fórmulas moleculares possíveis a partir da massa molecular exata obtida ou mesmo a confirmação da fórmula molecular. Softwares de alguns equipamentos já realizam este tipo de análise, propondo a distribuição isotópica teórica de determinada fórmula molecular para ser comparada pelo analista com o espectro de massas obtido e ou até mesmo fazendo comparações automatizadas, que retornam um resultado percentual desta comparação.

Além disso, equipamentos de CLAE/EM podem fragmentar íons na fonte de ionização. Com isso, são formados menos íons do que em fragmentações típicas de instrumentos de CLAE/EM/EM, porém esses íons podem ser muito importantes para a caracterização/confirmação de substâncias. Essa geração de íons de confirmação acontece às custas da intensidade do íon molecular, isto é quanto maior a intensidade do íon molecular, menor será a formação de íons produto. Na técnica de CLAE/EM-TOF este parâmetro pode ser particularmente importante, porque fornece informações estruturais valiosas (fragmentação característica para cada substância), tornando possível determinar a massa exata de cada íon produto característico e

juntamente com a massa molecular de seu íon precursor. Dessa forma, pode-se cumprir os critérios de identificação de um composto.

As técnicas de *screening* por espectrometria de massas *tandem* (EM/EM) com monitoramento MRM são capazes de detectar somente os compostos alvos previamente definidos no método, enquanto o espectrômetro de massas por TOF pode-se pesquisar compostos não alvo, que não eram originalmente suspeitos, já que os arquivos são salvos no modo de varredura completa (*full scan data*) com massa exata e pode-se através da análise dos resultados, buscar as massas moleculares exatas de novos compostos, sem a necessidade de reinjetar as amostras.

No passado, uma das desvantagens da técnica de CLAE/TOF-EM era o pequeno intervalo dinâmico para análises quantitativas, porém a instrumentação moderna é agora capaz de manter a linearidade da resposta em mais de 3 ou 4 ordens de magnitude, como pode ser observado em diversas publicações recentes.

Em 2010, Nielsen⁷⁹ desenvolveu um método de *screening* e quantificação de 52 substâncias em cabelo, incluindo cocaína e benzoilecgonina, por UPLC/TOF-EM. Além disso, em toxicologia forense, diversos métodos de *screening* de drogas e seus principais metabolitos em matrizes biológicas utilizando CLAE/TOF-EM têm sido publicados.^{80,81,82}

Outras áreas também têm utilizado este mesmo tipo de abordagem de *screening* de substâncias por meio da determinação de sua massa exata por CLAE/TOF-EM. Zhou *et al.*⁸³ desenvolveram metodologia para a identificação e quantificação simultânea de 26 alcaloides naturais de origem vegetal por CLAE/TOF-EM. Desde 2002 Thurman e Ferrer^{84,85} têm publicado uma série de artigos sobre a identificação e quantificação de agrotóxicos e outras substâncias em água e vegetais utilizando CLAE/TOF-EM. Em 2007, eles publicaram uma metodologia para a determinação simultânea de 101 agrotóxicos e seus produtos de degradação em água e comida por CLAE/TOF-EM.⁸⁶

2. OBJETIVOS

- Desenvolvimento de metodologia analítica mais simples e direta para a quantificação das truxilinas, que envolva menos etapas de preparação de amostras, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE/EM). Para esse desenvolvimento, são propostas as seguintes etapas: (a) testes e otimização das condições cromatográficas; (b) construção das curvas de calibração experimentais; (c) comparação com a metodologia publicada na literatura, que emprega cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons (CG/DCE).
- Determinação dos perfis e teores de truxilinas em amostras de cocaína provenientes dos estados do Acre, Amazonas, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná, Rondônia, São Paulo e avaliação da possibilidade de distinção entre as amostras, por origem geográfica, com base nos perfis obtidos. Para essa investigação, são propostas as seguintes etapas: (a) determinação do teor de cocaína; (b) avaliação da forma de apresentação da cocaína (cocaína base ou cloridrato de cocaína); (c) determinação dos teores de cada uma das truxilinas; (d) determinação dos teores dos alcaloides.
- Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação simultânea dos principais adulterantes e outros alcaloides tropânicos em amostras de cocaína, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE/EM). Para esse desenvolvimento, são propostas as seguintes etapas: (a) testes e otimização das condições cromatográficas; (b) construção das curvas de calibração experimentais para os alcaloides; (c) determinação dos limites de detecção dos alcaloides.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

3.1.1. Equipamentos, vidrarias e acessórios

- **CG/DIC:** cromatógrafo gasoso Agilent Technologies® 6890N, detector por ionização em chama, injetor tipo *split/splitless*, amostrador automático Agilent Technologies 7693 O sistema cromatográfico foi acoplado a um microcomputador, e controlado com uso do *software* MSD Chem Station, versão E.02.01.1177; e os dados analisados com auxílio do *software* Enhanced Data Analysis, ambos da Agilent Technologies®. Foi utilizada coluna para CG DB1-MS (35 m x 0,20 mm, filme 0,33 µm), Agilent Technologies®;
- **CG/DCE:** cromatógrafo gasoso Agilent Technologies® 6890N, detector por captura de elétrons Ni⁶³ (µ-ECD - G2379A), injetor tipo PTV, amostrador automático Combi Pal-CTC Analytics, Agilent Technologies® (G6500-CTC). O sistema cromatográfico foi acoplado a um microcomputador, e controlado com uso do *software* MSD Chem Station, versão E.02.00.493; e os dados analisados com auxílio do *software* Enhanced Data Analysis, ambos da Agilent Technologies®. Foi utilizada coluna para CG OV-1701 (30 m x 0,25 mm, filme 0,25 µm), Ohio Valley Specialty Company-OV®;
- **CLAE/EM-EM:** cromatógrafo líquido de ultra alta eficiência Agilent Technologies® modelo 1290 Infinity, composto por bomba binária (G4220A), injetor automático (G4226A), módulo para controle de temperatura do injetor (G1316C), compartimento de coluna com termostato (G1316A), detector de arranjo de diodos – DAD (G4212A) e espectrômetro de massas triplo quadrupolo 6460 Triple Quad LC/MS (G6460A). O sistema cromatográfico foi acoplado a um microcomputador, e controlado com uso do *software* Mass Hunter Workstation Acquisition para QQQ, versão B.03.00; e os dados analisados com auxílio dos *softwares* Mass Hunter Workstation Software – Qualitative Analysis, versão B.03.00 e Quantitative Analysis QQQ, versão B.03.00, Agilent

Technologies[®]. Foi utilizada coluna cromatográfica para UHPLC Zorbax Eclipse Plus (100 x 2,1 mm, 1,8 µm), Agilent Technologies[®];

- **CLAE/EM:** cromatógrafo líquido de alta eficiência Agilent Technologies[®] modelo 1100 Series, composto por degaseificador a vácuo (G1379A), bomba quaternária (G1311A), injetor automático (G1329A), módulo para controle de temperatura do injetor (G1330B), compartimento de coluna com termostato (G1316A), detector de arranjo de diodos – DAD (G1315B) e espectrômetro de massas por tempo de voo LC/MSD TOF (G1969A). O sistema cromatográfico foi acoplado a um microcomputador, e controlado com uso do *software* Mass Hunter Workstation Acquisition para TOF/Q-TOF, versão B.02.01; e os dados analisados com auxílio dos *softwares* Mass Hunter Workstation Software – Qualitative Analysis, versão B.03.01 e Quantitative Analysis TOF, versão B.04.00, Agilent Technologies[®]. Foram utilizadas colunas cromatográficas para CLAE: Zorbax 300SB-C18 (250 x 2,1 mm, 5 µm), Zorbax Eclipse XDB-C18 (150 x 2,1 mm, 5 µm), Zorbax Eclipse XDB-C18 (150 x 2,1 mm, 3,5 µm) e Zorbax Eclipse Plus C18 (150 x 2,1 mm, 3,5 µm), todas da Agilent Technologies[®];
- agitador de tubos Denley Vibromix, Thermo Electron Corporation[®];
- balança analítica XP 205, capacidade máxima 220 g, 0,01 mg, Mettler Toledo[®];
- balões volumétricos em vidro borosilicato de 10, 25, 50 e 1000 mL, Pyrex[®];
- banho de ultra-som Branson 1510, Branson[®];
- bomba seringa KDS-100-CE, KD Scientific[®];
- centrífuga CR4i, Jouan, Thermo Electron Corporation[®];
- chapa de aquecimento Denley MagMix, Thermo Electron Corporation[®];
- conjunto para filtração a vácuo composto de funil, base e tampa tubulada em vidro borosilicato e garra de alumínio anodizado, Millipore[®];
- *erlenmeyers* em vidro incolor de 25 mL;
- filtros de amostras Millex em polietileno com membrana de PTFE modificada, poro de 0,45 µm, 25 mm de diâmetro, não estéril, Millipore[®];

- frascos incolores de vidro com capacidade de 1,8 mL, lacráveis, sem inscrições, Wheaton, tampas tipo lacre com septos de teflon/borracha Sun Sr[®];
- membrana de LCR em PTFE modificado, poro de 0,45 µm e 47 mm de diâmetro, Millipore[®];
- peagâmetro digital 780 pH Meter, Metrohm[®];
- pipeta automática Discovery +, com capacidade de 1 a 10 mL, High Tech Lab – PZ HTL[®];
- pipeta automática Discovery +, com capacidade de 1 a 5 mL, High Tech Lab – PZ HTL[®];
- pipeta automática P100, com capacidade de 20 a 100 µL, Pipetman, Gilson[®];
- pipeta automática P1000, com capacidade de 200 a 1000 µL, Pipetman, Gilson[®];
- seringa de vidro com capacidade para 1mL, Hamilton[®];
- seringas de plástico descartáveis com capacidade para 3 mL, Injex[®];
- sistema de purificação de água Direct-Q 5, Millipore[®].

3.1.2. Solventes e reagentes

- acetonitrila e metanol, grau de pureza adequado à cromatografia líquida, J.T. Baker[®];
- formiato de amônio de grau analítico, Sigma-Aldrich;
- isooctano, grau de pureza adequado à para espectrofotometria, Carlos Erba;
- anidrido heptafluorobutírico (HFBA) ≥ 99,0%, Fluka;
- ácido sulfúrico, ácido fórmico, bicarbonato de sódio e hidróxido de amônio, grau P.A., Merck;
- éter etílico, Chromasolv[®], grau de pureza adequado à cromatografia líquida, Sigma-Aldrich;
- clorofórmio, grau de pureza adequado à cromatografia líquida, Tedia.

3.1.3. Padrões

- 2,2,2-trifenil-acetofenona e dipentil-ftalato, Acros Organics;
- aldrin, Pestanal, Riedel – De Haen AG;
- atropina, Sigma;
- benzocaína 99,9%, Fluka;
- cafeína 98,5%, Acros Organics;
- cloridrato de lidocaína mono-hidratado, cloridrato de procaína $\geq 97\%$, cloridrato de tetramisol (levamisol), cloridrato de diltiazem, $> 99\%$ dicloridrato de hidroxizina $\geq 98\%$, todos da Sigma;
- dimetil-mu-truxinato, *Special Testing & Research Laboratory* do *Drug Enforcement Administration* (DEA);
- fenacetina 99,9%, TCI-EP;
- padrão de cloridrato de cocaína (RTI-DEA), contendo teores variando de 0,04 a 1,51% (m/m) de cada um dos isômeros das truxilinas; 0,37% (m/m) de benzoilecgonina; cis-cinamoilcocaína; 3,10% (m/m) de trans-cinamoilcocaína; 0,80% (m/m) de ecgonina; 0,51% de metilecgonina; 2,72% (m/m) de 0,06% (m/m) de N-formilcocaína; 0,08% (m/m) de trimetoxicocaína; e 0,05% (m/m) de tropacocaína e 83,4% de cocaína, *Special Testing & Research Laboratory* do *Drug Enforcement Administration* (DEA);

3.1.4. Soluções-padrão e de trabalho

Soluções-padrão estoque de benzocaína, cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína, levamisol, diltiazem, hidroxizina e do padrão interno atropina foram preparadas na concentração de 1,0 mg/mL em metanol, para as análises de CLAE/EM e CLAE/EM-EM.

Foram preparadas soluções de trabalho de benzocaína, cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína, levamisol, diltiazem, hidroxizina e do padrão interno atropina, a partir de diluições das soluções-padrão, obtendo-se concentração final de 1,0 mg/L.

Soluções-padrão de benzoilecgonina e norcocaína com concentração de 1,0 mg/mL em metanol foram obtidas da Cerilliant[®], Round Rock, TX, USA, foram

preparadas soluções de trabalho, de concentração final de 1,0 mg/L destes analitos, e utilizadas somente para análises qualitativas de CLAE/EM e CLAE/EM-EM.

Para as análises de alcaloides tropânicos por CLAE/EM e CLAE/EM-EM, foi utilizado o padrão de cloridrato de cocaína (RTI-DEA), gentilmente cedido pelo *Special Testing & Research Laboratory* do *Drug Enforcement Administration* (DEA), fortificado com quantidades estabelecidas de truxilinas, benzoilecgonina, ecgonina, metilecgonina, trimetoxicocaína, tropacocaína, cis e trans-cinamoilcocaína. Este padrão foi pesado e diluído em solução de 106 µg/mL de atropina em metanol, sendo que esta solução estoque resultante apresentava as concentrações de cada alcaloide, descritas na Tabela 9.

Tabela 9 - Concentrações dos alcaloides na solução estoque para análises por CLAE/EM.

Alcaloide Tropânico	Concentração (mg/L)
Truxilinas (total)	72,02
Benzoilecgonina	5,80
Ecgonina	12,60
Metilecgonina	8,07
Trimetoxicocaína	1,32
Tropacocaína	0,78
Cis-cinamoilcocaína	42,91
Trans-cinamoilcocaína	48,98

Todas as soluções (padrão e de trabalho) foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar ou incolor e mantidas sob refrigeração (-20°C).

3.1.5. Amostras de cocaína

As 160 amostras de cocaína analisadas neste trabalho são provenientes de apreensões realizadas pela Polícia Federal no período compreendido entre os anos de 2009 a 2011 e encaminhadas pelos Setores Técnico-Científicos (SETEC's) das Superintendências Regionais da Polícia Federal nos estados do Acre (16 amostras), Amazonas (15), Distrito Federal (16), Mato Grosso (16), Mato Grosso do Sul (14), Paraná (39), Rondônia (20) e São Paulo (24).

Todas as amostras de cocaína foram homogeneizadas antes das análises, com auxílio de almofariz e pistilo de vidro, sendo que para as amostras de cocaína na forma de base foi utilizado nitrogênio líquido para aumentar a eficiência do processo.

3.2. Métodos

3.2.1. Análises de truxilinas por CG/DCE

A metodologia de CG/DCE foi utilizada neste trabalho para a quantificação dos dez isômeros das truxilinas nas amostras e comparação com o novo método proposto por CLAE/EM. O método de CG/DCE empregado foi o mesmo publicado por Moore *et al.*²¹, com pequenas modificações implementadas pelo *Special Testing & Research Laboratory*, grupo responsável pelo desenvolvimento deste método. Como esta foi considerada a metodologia de referência não foi necessária a otimização da mesma, somente foram aplicados controles diários de soluções padrão para verificação da precisão e exatidão da metodologia em nosso laboratório, durante o período de construção da curva de calibração e análise das amostras.

a) Procedimentos de redução e derivatização

Foi preparada uma solução estoque do padrão interno dimetil-mu-truxinato ($C_{20}H_{20}O_4$) com concentração 0,987 mg/mL em clorofórmio. Tal solução foi diluída 50 vezes obtendo-se a concentração de 19,74 $\mu\text{g/mL}$ para a solução de padrão interno de trabalho. Foram transferidos 500 μL dessa última solução para tubos de ensaio e deixou-se evaporar o clorofórmio a temperatura ambiente em capela.

As amostras, controles e padrões de calibração foram adicionados nos tubos anteriormente preparados com padrão interno. Para amostras de cloridrato de cocaína foram pesados entre 3,5 e 4,5 mg e para amostras de cocaína base foram pesados entre 2,5 e 3,5 mg.

Em seguida adicionaram-se 100 μL de clorofórmio seco e 4 mL de éter etílico seco em cada tubo. Depois foram adicionados 200 μL de solução 1 mol/L de hidreto de alumínio e lítio em éter etílico para amostras de cloridrato de cocaína e 400 μL para amostras de cocaína base. Após breve agitação em vórtex, os tubos foram colocados em banho-maria a 55 °C até a evaporação total dos solventes.

Adicionaram-se 5 mL de solução de ácido sulfúrico 2 mol/L e 5 mL de éter etílico em cada tubo, fechando-os e agitando-os, em seguida, por cerca de 2 minutos. Então, o material foi centrifugado e a fase de éter obtida foi transferida para

novos tubos, que foram submetidos à evaporação em banho-maria a 55 °C até restarem cerca de 100 µL de éter etílico. O restante do éter foi evaporado em fluxo de nitrogênio.

Depois foi adicionado 1 mL de acetonitrila e 50 µL de HFBA em cada tubo, que foram colocados em banho-maria a 75 °C durante 15 minutos. Depois, os tubos foram retirados do banho-maria e esperou-se 15 minutos para que os mesmos retornassem a temperatura ambiente e foram adicionados 5 mL de solução de aldrin (200 µg/L) em isooctano e 5 mL de solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio em cada tubo. Finalmente, após agitação vigorosa os tubos foram centrifugados e foi transferido 1 mL da fase de isooctano para vials de vidro de 1,8 mL, que foram analisados por CG-DCE.

b) Condições cromatográficas

A temperatura do forno foi programada inicialmente a 100 °C (5 min), rampa de 25 °C/min até 160 °C (1 min), depois de 4 °C/min até 245 °C (1 min), e então de 25°C/min até 280 °C (5 min), tempo total de 37,45 minutos. Gás Hélio (He) foi usado como gás de arraste a um fluxo de 1,0 mL/min. O injetor foi mantido a 250 °C, com injeção de 1,0 µL de amostra em modo splitless. O detector por captura de elétrons (DCE) foi mantido a uma temperatura de 300 °C, com fluxo de nitrogênio (N₂) de 60,0 mL/min.

c) Preparação das curvas analíticas

Foram adicionadas a tubos de ensaio, contendo 9,87 µg de padrão interno (dimetil-mu-truxinato), massas de aproximadamente 1, 2, 4, 6, 8 e 10 mg do padrão de cloridrato de cocaína RTI-DEA. Cada um destes tubos foi submetido ao processo de redução e derivatização descrito no subitem 3.2.2.a. As curvas analíticas foram obtidas pela projeção das razões das concentrações de cada um dos isômeros das truxilinas pela concentração do padrão interno no eixo das abscissas e das relações de áreas referentes a cada um deles e o padrão interno no eixo das ordenadas, utilizando-se a regressão linear pelo método dos mínimos quadrados para a obtenção da equação da reta. A linearidade, definida como a capacidade do método gerar resultados proporcionais das espécies em estudo, foi avaliada através do

coeficiente de determinação (r^2) da curva. As concentrações obtidas para cada isômero das truxilinas estão descritas na Tabela 10.

Tabela 10 - Concentrações das truxilinas nas soluções utilizadas para a construção das curvas de calibração.

Truxilina	Concentração (mg/L)					
	1	2	3	4	5	6
epsilon	0,84	1,69	3,40	5,15	6,90	8,50
delta	1,09	2,20	4,41	6,69	8,96	11,05
beta	2,10	4,22	8,46	12,83	17,18	21,18
peri	0,16	0,32	0,64	0,97	1,29	1,60
neo	0,50	1,01	2,02	3,06	4,10	5,05
epi	0,08	0,16	0,32	0,48	0,65	0,80
alfa	3,00	6,03	12,08	18,32	24,53	30,25
omega	0,61	1,23	2,47	3,74	5,01	6,18
gama	0,49	0,99	1,98	3,01	4,02	4,96
zeta	0,16	0,31	0,63	0,95	1,28	1,57

d) Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) foi determinado por meio da análise de soluções de padrão de cocaína RTI-DEA preparadas de acordo com o método descrito no item 3.2.2.a, em concentrações decrescentes. Considerou-se como LD aquele referente à menor concentração na qual foi possível obter picos integrados pelo equipamento, em seis replicatas, nas condições especificadas, com relação sinal/ruído (altura do pico) maior que 3.

O limite de quantificação (LQ) foi determinado da mesma forma que o LD, sendo a menor concentração que pôde ser determinada com precisão (coeficiente de variação menor que 20%) e exatidão adequada (erro relativo de $\pm 20\%$).

Como o padrão de referência RTI-DEA utilizado, contém teores diferenciados de cada um dos isômeros das truxilinas, os procedimentos para determinação de LD e LQ foram realizados para quatro (peri, epi, gama e zeta) dos dez isômeros e em virtude da semelhança dos isômeros e resposta similar no detector, considerou-se

por aproximação o LD e LQ destes quatro isômeros como sendo os mesmos dos demais isômeros.

e) Análise das amostras selecionadas por CG/DCE

Após a homogeneização, as 160 amostras de cocaína foram preparadas para análise conforme descrito no subitem 3.2.2.a.

3.2.2. Análises de CLAE/EM (TOF)

A metodologia de CLAE/EM proposta neste trabalho foi desenvolvida para a detecção simultânea dos adulterantes benzocaína, cafeína, diltiazem, fenacetina, hidroxizina, lidocaína e levamisol e para detecção e quantificação prioritária das truxilinas, além dos demais alcaloides minoritários benzoilecgonina, ecgonina, metilecgonina, trimetoxicocaína, tropacocaína, cis e trans-cinamoilcocaína, utilizando como padrão interno a atropina. As condições cromatográficas e do espectrômetro de massas foram otimizadas, conforme descrição detalhada no item 3.2.4.c, a seguir. Todas as amostras de cocaína objeto deste trabalho foram analisadas por esta técnica, além das soluções padrão e controles.

a) Condições cromatográficas

Eluente A: solução de formiato de amônio/ácido fórmico foi preparada em água purificada no sistema Direct-Q 5, na concentração de 2 mmol/L (2 mL da solução estoque de formiato de amônio 1 mol/L – 65,01 g de formiato de amônio em 1000 mL de água purificada - em 1000 mL de água purificada) e de 0,1% de ácido fórmico, (adição de 1 mL de ácido fórmico em 1000 mL da solução 2 mmol/L de formiato de amônio). O pH desta solução é de 4,0;

Eluente B: metanol.

A fase móvel foi utilizada nas análises através de gradiente, conforme a Tabela 11, com fluxo constante de 0,45 mL/min, e o tempo de equilíbrio pós-corrída para retornar a composição inicial da fase móvel foi de 5 minutos, sendo o tempo total de análise igual a 23 minutos e a temperatura da coluna mantida a 40°C. O volume de injeção foi de 1 µL.

Tabela 11 - Gradiente utilizado nas análises por LC-EM.

Tempo (min)	Eluente A - % (v/v)	Eluente B - % (v/v)
Inicial	90	10
1,0	80	20
13,0	45	55
14,0	0	100
18,0	0	100

b) Condições do espectrômetro de massas

As condições da fonte de ionização ESI foram as seguintes: ionização positiva; temperatura e fluxo do gás secante (*drying gas*) (N₂), 350 °C, 12 L/min; pressão do gás nebulizador (*nebulizer*), 40 psi; voltagem do capilar (*capillary voltage*), 3500V; voltagem de fragmentação (*fragmentor*), 200V. Os espectros de massas foram adquiridos na faixa de m/z 100 a 1000, no modo *scan*. Foram selecionados os íons protonados [M+H]⁺ de cada analito investigado e para fins de quantificação os cromatogramas foram reconstruídos pós-análise, extraindo-se a intensidade de cada íon, através da sua massa exata, com uma janela de ± 0,01 (m/z).

c) Otimização das condições analíticas

A metodologia foi otimizada para atingir a melhor seletividade possível, com objetivo de minimizar co-eluições que porventura pudessem causar supressão de íons ou aumento artificial na suas intensidades no espectrômetro de massas. Foram testadas as diversas condições descritas a seguir. Como eluentes aquosos testaram-se (eluente A): H₂O/0,1% ácido fórmico/2 mmol/L formiato de amônio (pH = 2,8), H₂O/0,1% ácido fórmico/2 mmol/L formiato de amônio (pH = 4,0), e H₂O/0,03% dietilamina (pH = 11,3); como eluentes orgânicos (eluente B): acetonitrila/0,1% ácido fórmico, e metanol; temperaturas do compartimento de colunas: 30 °C, 40 °C e 50 °C; colunas: Zorbax 300SB-C18 (250 x 2,1 mm, 5 µm), Zorbax Eclipse XDB-C18 (150 x 2,1 mm, 5 µm), Zorbax Eclipse XDB-C18 (150 x 2,1 mm, 3,5 µm) e Zorbax Eclipse Plus C18 (150 x 2,1 mm, 3,5 µm); e gradientes de fase móvel: o mesmo descrito na Tabela 13, um de 5% a 95% de eluente B em 15 minutos, e um de 5% a 95% de eluente B em 25 minutos.

Uma solução de trabalho do padrão de cocaína RTI/DEA foi enriquecida com soluções padrão dos fármacos mais comuns encontrados em amostras de cocaína, como benzocaína, cafeína, diltiazem, fenacetina, hidroxizina, lidocaína, levamisol e procaína obtendo concentração igual a 100 mg/L de cada fármaco. Esta solução foi alíquotada em dezenas de vials que foram mantidos a -20°C. Então, a solução foi injetada em cada uma das combinações de condições cromatográficas descritas acima. Para a determinação das melhores condições cromatográficas foram avaliados os parâmetros de fator de retenção (k), simetria do pico obtido, fator de separação (α) e resolução (R_s).

Foram otimizadas, ainda, as voltagens de fragmentação e do capilar do espectrômetro de massas para as truxilinas. Uma solução padrão de truxilinas em metanol foi infundida diretamente no equipamento com fluxo de 50 $\mu\text{L}/\text{min}$, a voltagem de fragmentação foi variada de 60 a 270 V e a voltagem do capilar testada a 3500 e 4000 V.

- **Fator de retenção (k')**

O fator de retenção é a medida de quando o pico de interesse elui em relação ao tempo de eluição de compostos não retidos. O fator de retenção foi calculado através da equação descrita abaixo⁸⁷:

$$k' = \frac{(t_1 - t_0)}{t_0} \quad (1)$$

em que t_1 e t_0 são respectivamente os tempos de retenção do analito e de um composto não retido.

O tempo de retenção do composto não retido foi determinado através da injeção, nas condições cromatográficas, de 10 μL de metanol (substância que sabidamente não interage com a coluna cromatográfica octadecil).

- **Fator de separação (α)**

O fator de separação foi obtido através da razão entre os fatores de retenção de dois compostos de eluições adjacentes, conforme a equação⁸⁷:

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} \quad (2)$$

- **Resolução (R_s)**

A separação entre dois picos tende a ser gaussiana e é dada pela distância entre o centro dos picos dividido pela largura média desses picos, então quanto maior a separação nos tempos de retenção e mais estreitos os picos mais alta é a resolução obtida. A equação para definir a resolução está descrita a seguir⁸⁷:

$$R_s = \frac{2(t_2 - t_1)}{w_2 - w_1} \quad (3)$$

em que t_1 e t_2 representam os tempos de retenção dos analitos 1 e 2 e w_1 e w_2 representam as larguras dos picos dos analitos 1 e 2.

- **Fator de alargamento (T_f)⁸⁸**

Um pico é considerado assimétrico quando ele desvia do comportamento simétrico ideal de um pico gaussiano. O problema de assimetria mais comum em CLAE é alargamento no final do pico (ou na “cauda”). A exatidão de uma quantificação pode diminuir com o aumento no alargamento do pico em virtude das dificuldades encontradas pelos sistemas de integração em determinar onde o pico começa e termina, na determinação da área a ser integrada. Uma das medidas para mensurar o alargamento de picos é o fator de alargamento (T_f , do inglês “Tailing Factor”), que pode ser determinado pela equação abaixo:

$$T_f = \frac{W_x}{2f} \quad (4)$$

em que W_x representa a largura do pico a 5% da sua altura, a partir da linha de base e f representa a distância entre o máximo do pico e a parte frontal do pico a 5% da sua altura.

d) Preparação das curvas analíticas

A partir da solução estoque preparada conforme descrição do item 3.1.4, foram realizadas diluições em triplicata para obter as concentrações descritas na Tabela 12. As curvas analíticas foram obtidas pela projeção das razões das concentrações de cada um dos analitos pela concentração do padrão interno no eixo das abscissas e das médias das relações de áreas referentes a cada um deles e o padrão interno no eixo das ordenadas, utilizando-se a regressão linear pelo método dos mínimos quadrados para a obtenção da equação da reta. No caso das truxilinas foram somadas as áreas de todos os picos de m/z 659,3327 em cada concentração para a construção da curva, já que o padrão disponível RTI-DEA, possuía uma mistura dos isômeros, não sendo possível diferenciá-los, ou seja foi construída uma única curva de total de truxilinas e não uma curva para cada isômero. A linearidade foi avaliada por meio do coeficiente de determinação (r^2) da curva.

Tabela 12 - Concentrações totais dos analitos nas soluções utilizadas para a construção das curvas de calibração.

Analito	Concentração (mg/L)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Truxilinas			5,762	11,52	23,048	34,572	46,096	57,620	72,025
Benzoilecgonina	0,116	0,290	0,464	0,928	1,857	2,785	3,713	4,642	5,802
Cis-cinamoilcocaína	0,858	2,146	3,433	6,866	13,731	20,597	27,462	34,328	42,910
Trans-cinamoilcocaína	0,980	2,449	3,918	7,836	15,673	23,509	31,346	39,182	48,978
Ecgonina	0,252	0,630	1,008	2,016	4,032	6,047	8,063	10,079	12,599
Metilecgonina	0,161	0,404	0,646	1,292	2,584	3,876	5,167	6,459	8,074
Trimetoxicocaina	0,026	0,066	0,105	0,211	0,421	0,632	0,842	1,053	1,316
Tropacocaina	0,016	0,039	0,062	0,124	0,249	0,373	0,498	0,622	0,777

e) Parâmetros de confiança analítica

• Especificidade e seletividade

Um método que produz resposta para apenas um analito é chamado específico. Um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, é chamado seletivo⁸⁹.

A fim de se avaliar possíveis substâncias que viessem a interferir nas análises, soluções de trabalho do padrão de cocaína RTI/DEA foram enriquecidas com soluções padrão dos fármacos mais comuns encontrados em amostras de cocaína, benzocaína, cafeína, diltiazem, fenacetina, hidroxizina, lidocaína, levamisol e procaína obtendo concentração igual a 1 mg/L de cada fármaco. Estas amostras enriquecidas foram então submetidas aos procedimentos analíticos propostos.

• Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) foi determinado por meio da análise de soluções de padrão de cocaína RTI/DEA preparadas de acordo com o método descrito no item 3.2.2.a, em concentrações decrescentes. Considerou-se como LD aquele referente à menor concentração na qual foi possível obter picos integrados pelo equipamento, em sete replicatas, nas condições especificadas, com relação sinal/ruído (altura do pico) maior que 3.

O limite de quantificação (LQ) foi determinado da mesma forma que o LD, sendo a menor concentração que pode ser determinada com precisão (coeficiente de variação menor que 20%) e exatidão adequada (erro relativo $\pm 20\%$).

f) Precisão e Exatidão

• Precisão intra-ensaio e inter-ensaio

A precisão de um método analítico trata-se uma medida do erro aleatório e é definida como a concordância de resultados obtidos durante as análises de replicatas de amostras. Este parâmetro avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas em uma mesma amostra⁹⁰. Neste estudo, a precisão intra-ensaio foi determinada por meio da análise, em um mesmo dia, de seis replicatas de soluções do padrão RTI-DEA em concentrações totais de truxilinas: baixa (9 mg/L), média (23mg/L) e alta (46 mg/L), com padrão interno, dentro da faixa de linearidade dos

analitos. Para determinação da precisão inter-ensaio foram analisadas, em seis dias diferentes, três replicatas de soluções do padrão RTI-DEA em concentrações baixa, média e alta, com padrão interno. Em ambos os casos a precisão foi calculada através do coeficiente de variação (CV) das áreas relativas (razão entre área absoluta dos analitos e a área absoluta do padrão interno), segundo a equação a seguir:

$$\% CV = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{média}} \times 100 \quad (4)$$

- **Exatidão**

A exatidão de um método analítico é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro⁸⁹. Pode ser definido como a proximidade entre a concentração do analito determinado pela metodologia proposta e a real concentração desta substância no material analisado. Neste estudo, a exatidão foi determinada através da análise de seis replicatas de soluções do padrão RTI-DEA em concentrações baixa, média e alta com padrão interno, dentro da faixa de linearidade dos analitos.

Os valores de área relativa foram convertidos de concentração de analito por mililitro de amostra através das respectivas equações de regressão linear obtidas das curvas analíticas. As concentrações obtidas foram comparadas com as concentrações reais de cada analito presentes nas soluções padrão. Uma forma de avaliar a exatidão do método é por meio do cálculo do erro relativo (ER), expresso em percentagem por meio da equação⁸⁹:

$$\text{Erro Relativo} = \frac{(\text{concentração experimental} - \text{concentração real})}{\text{concentração real}} \times 100 \quad (5)$$

g) Análise das amostras selecionadas por CLAE/EM

Após a homogeneização, foram transferidos entre 8 e 10 mg das amostras de cocaína na forma de base livre e entre 10 a 12 mg das amostras de cloridrato de cocaína para erlenmeyers de 25 mL, depois foram adicionados 10 mL de solução de

106,4 µg/L de atropina em metanol. Em seguida procedeu-se leve agitação manual da solução e transferiram cerca de 1 mL dessa solução para vials de vidro de 1,8 mL, que foram lacrados e injetados no equipamento. As amostras, que após a adição da solução de atropina em metanol, apresentavam material particulado visível e não dissolvido foram filtradas com um conjunto de seringa descartável e filtro de amostra, diretamente nos vials de vidro.

3.2.3. Quantificação de cocaína por CG/DIC

A técnica de CG/DIC foi utilizada neste trabalho para a determinação do teor de cocaína das amostras, já que os teores de alcaloides minoritários devem ser expressos em relação ao teor de cocaína como forma de normalizar as diluições que as amostras possam ter sofrido. Além disso, através desta técnica foi possível determinar os teores dos alcaloides cis e trans-cinamoilcocaína e confirmar a presença dos adulterantes benzocaína, cafeína, diltiazem, fenacetina, hidroxizina, lidocaína, levamisol, e procaína.

a) Condições cromatográficas

A temperatura do forno foi programada inicialmente a 150 °C (2 min), rampa de 40 °C/min até 315 °C (3,87 min), tempo total de 9,99 minutos. Gás Hélio (He) foi usado como gás de arraste a um fluxo de 1,0 mL/min. O injetor foi mantido a 280 °C, com injeção de 1,0 µL de amostra com razão de split 50:1. O detector por ionização em chama (DIC) foi mantido a uma temperatura de 320 °C, com fluxo de hidrogênio (H₂) de 60 mL/min, fluxo de ar sintético de 350 mL/min e fluxo de nitrogênio (N₂) de 35 mL/min.

b) Preparação das curvas analíticas

Foram preparadas em triplicata soluções com concentrações de 8,0; 40,2; 80,4; 160,8; 321,7; 482,5; 603,2; 804,2 mg/L de cocaína e 2,68; 5,35; 10,71; 13,38; 20,01 mg/L de trans-cinamoilcocaína. A solução de padrões internos utilizada foi preparada em clorofórmio com as seguintes concentrações 51,0 mg/L de 2,2,2-trifenil-acetofenona (padrão interno para as cinamoilcocaínas), 490,1 mg/L de dipentil-ftalato (padrão interno para a cocaína), e 3% (v/v) de dietilamina. A curva analítica foi obtida pela projeção das concentrações de cada um dos analitos

(cocaína e trans-cinamoilcocaína) no eixo das abscissas e das relações de áreas referentes a cada um deles e dos respectivos padrões internos no eixo das ordenadas, utilizando-se a regressão linear pelo método dos mínimos quadrados para a obtenção da equação da reta. A linearidade, definida como a capacidade do método gerar resultados proporcionais da espécie em estudo, foi avaliada através do coeficiente de determinação (r^2) da curva (CHASIN *et al.*, 1998). A resposta obtida para o padrão de trans-cinamoilcocaína foi utilizado para construir a curva da cis-cinamoilcocaína.

c) Análise das amostras selecionadas por CG/DIC

Após a homogeneização, foram transferidos entre 8 e 10 mg das amostras de cocaína para *erlenmeyers* de 25 mL. Depois foram adicionados 10 mL de solução de 0,051 mg/mL de 2,2,2-trifenil-acetofenona, 0,4901 mg/mL de dipentil-ftalato, e 3% (v/v) de dietilamina em clorofórmio. Em seguida procedeu-se leve agitação manual da solução e transferiram cerca de 1 mL dessa solução para vials de vidro de 1,8 mL, que foram lacrados e injetados no equipamento.

3.2.4. Análises de alcaloides e adulterantes por CLAE/EM-EM (Triplo quadrupolo)

A técnica de CLAE/EM-EM foi utilizada neste trabalho apenas com propósitos qualitativos. O método empregado não foi otimizado, somente uma condição cromatográfica e coluna foram testadas. O método foi construído para a detecção, em uma mesma corrida, dos alcaloides truxilinas, benzoilecgonina, ecgonina, metilecgonina, norcocaína, trimetoxicocaína, tropacocaína, cis e trans-cinamoilcocaína e dos adulterantes benzocaína, cafeína, diltiazem, fenacetina, hidroxizina, lidocaína e levamisol. As amostras de cocaína objeto deste trabalho não foram analisadas por esta técnica, somente soluções padrão e de controle foram testadas com objetivo de verificar as potencialidades desta técnica em análises de perfil químico de cocaína.

a) Condições cromatográficas

Eluente A: solução de formiato de amônio/ácido fórmico foi preparada em água purificada no sistema Direct-Q 5, na concentração de 5 mol/L (5 mL da solução

estoque de formiato de amônio 1 mol/L – 65,01 g de formiato de amônio em 1000 mL de água purificada - em 1000 mL de água purificada) e de 0,01% de ácido fórmico, (adição de 100 µL de ácido fórmico em 1000 mL da solução 5 mmol/L de formiato de amônio). O pH desta solução é de 4,0;

Eluente B: solução de acetonitrila com 0,01% de ácido fórmico.

A fase móvel foi utilizada nas análises por meio de gradiente, conforme a Tabela 13, com fluxo constante de 0,5 mL/min, e o tempo de equilíbrio pós-corrída para retornar a composição inicial da fase móvel foi de 3 minutos, tempo total de análise de 9 minutos e temperatura da coluna mantida a 60 °C. O volume de injeção foi de 2 µL.

Tabela 13 – Gradiente utilizado nas análises por CLAE/EM-EM.

Tempo (min)	Eluente A - % (v/v)	Eluente B - % (v/v)
Inicial	90	10
0,5	85	15
3,0	50	50
4,0	5	95
6,0	5	95

b) Condições do espectrômetro de massas

As condições da fonte de ionização AP-ESI foram as seguintes: ionização positiva; temperatura e fluxo do *sheath gas* (N₂), 380 °C, 12 L/min; *nozzle voltage*, 500V; temperatura e fluxo do gás secante (*drying gas*) (N₂), 320 °C, 8 L/min; pressão do gás nebulizador (*nebulizer*), 27 psi; voltagem do capilar (*capillary voltage*), 3750V. No software de aquisição de dados o método foi programado para adquirir duas transições de MRM de cada composto, sendo que os íons precursores selecionados eram protonados [M+H]⁺. A voltagem de fragmentação (*fragmentor*) e a energia de colisão EM/EM (CID) foram otimizadas para cada analito e juntamente com os pares de MRM monitorados no método estão detalhadas na Tabela 14.

Tabela 14 - Transições de MRM monitorados, voltagem de fragmentação e energia de colisão (CID) para cada analito investigado por CLAE/EM-EM.

	Analito	Voltagem de fragmentação	1		2	
			Transição	CID	Transição	CID
1	Metilecgonina	101	200,1 -> 182,0	13	200,1 -> 82,0	25
2	Benzoilecgonina	111	290,1 -> 168,0	13	290,1 -> 105,0	29
3	Tropacocaína	80	246,1 -> 124,0	30	246,1 -> 67,0	30
4	Cocaína	138	304,2 -> 182,0	17	304,2 -> 77,0	61
5	Trimetoxicocaína	80	394,2 -> 195,0	30	394,2 -> 182,0	30
6	Cis-cinamoilcocaína	108	330,2 -> 182,0	13	330,2 -> 82,0	29
7	Trans-cinamoilcocaína	108	330,2 -> 82,0	13	330,2 -> 82,0	29
8	Truxilinas	177	659,3 -> 182,0	37	659,3 -> 131,0	50
9	Levamisol	116	205,1 -> 177,9	21	205,1-> 90,9	45
10	Cafeína	96	195,1 -> 137,9	17	195,1 -> 110,0	25
11	Lidocaína*	100	235,2 -> 86,0	13	-	-
12	Fenacetina	96	180,1 -> 109,9	21	180,1-> 137,9	13
13	Benzocaína	230	166,1 -> 137,8	10	166,1 -> 119,8	5
14	Diltiazem	131	415,2 -> 177,9	21	415,2 -> 309,8	17
15	Hidroxizina	104	375,2 -> 200,9	13	375,2-> 165,5	41

* A lidocaína apresenta praticamente um só íon produto em seu espectro de massas de fragmentação, portanto só foi monitorada uma transição para este composto.

4. RESULTADOS

4.1. Análises de truxilinas por CG/DCE

As condições cromatográficas para o método foram descritas detalhadamente no item 3.2.2. A Tabela 15 apresenta os tempos de retenção obtidos e a Figura 22 o cromatograma típico dos padrões internos e dos derivados di-heptafluorobutíricos dos diois truxilil e truxinil de cada um dos isômeros das truxilinas, que são os compostos detectados indiretamente após a redução e derivatização das truxilinas, identificados como (3) na Figura 23.

Tabela 15 - Tempos de retenção por CG/DCE dos derivados di-heptafluorobutíricos dos diois truxilil e truxinil.

	Truxilina	t _R (min)
PI1	Aldrin (PI) ^{a,b}	21,75
1	Epsilon	24,91
2	Delta	25,03
3	Beta	25,18
4	Peri	25,39
5	Neo	25,45
6	Epi	25,61
7	Alfa	25,84
8	Omega	26,02
9	Gama	26,23
PI2	Mu (PI) ^b	26,45
10	Zeta	26,74

^aAldrin foi usado como padrão interno do instrumento.

^bPI: padrão interno.

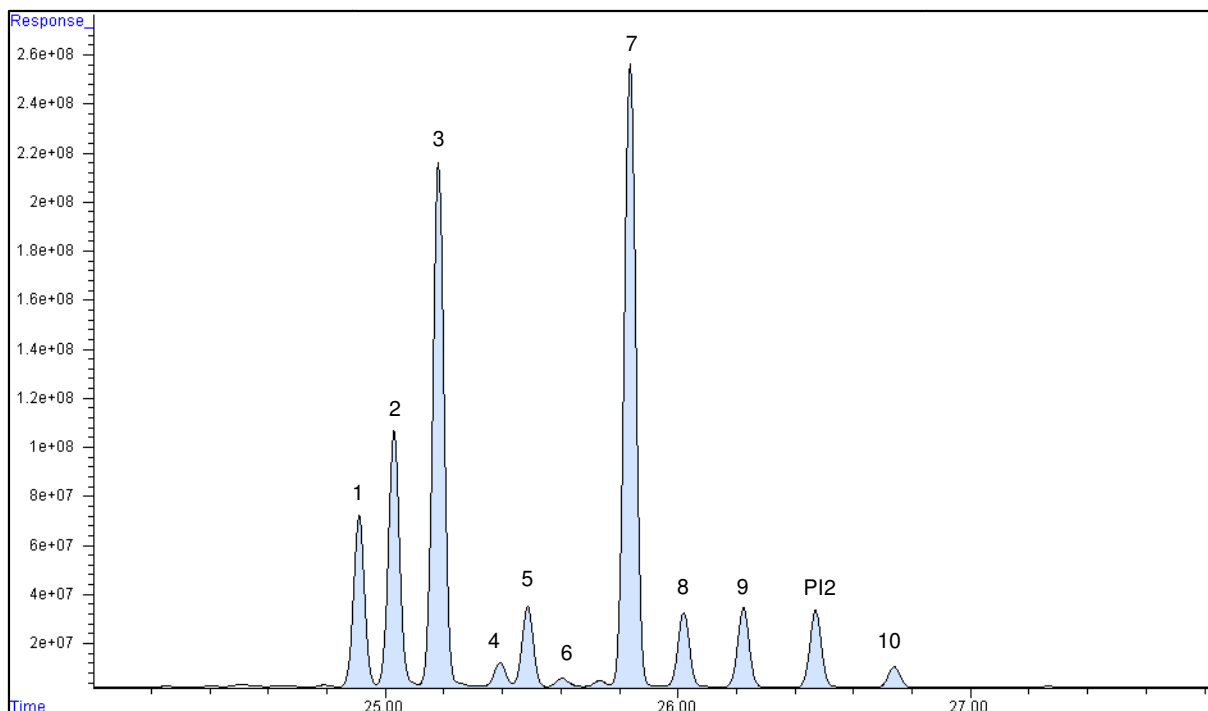


Figura 22 - Cromatograma típico dos derivados di-heptafluorobutíricos dos dióis truxilil e truxinil por CG/DCE. Picos: mesma numeração utilizada na Tabela 15.

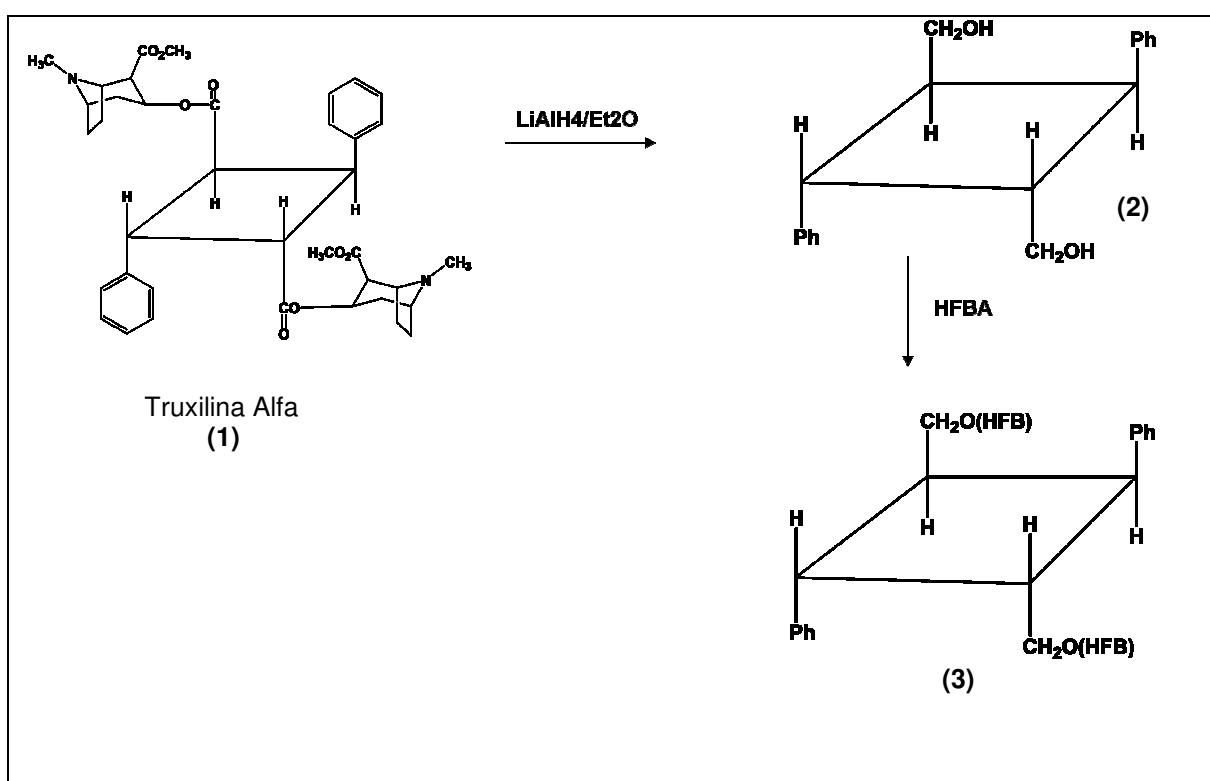


Figura 23 - Reações de redução e derivatização sofridas pelas truxilinas na sua preparação para análise por CG/DCE.

Tabela 16 - Áreas relativas obtidas para a elaboração das curvas analíticas dos isômeros e respectivos coeficientes de variação (%CV).

Concentração	Áreas relativas médias dos isômeros de truxilinas																			
	Epsilon	CV (%)	Delta	CV (%)	Beta	CV (%)	Peri	CV (%)	Neo	CV (%)	Epi	CV (%)	Alfa	CV (%)	Omega	CV (%)	Gama	CV (%)	Zeta	CV (%)
1	0,213	9,55	0,271	8,83	0,591	9,52	0,029	7,20	0,083	6,77	0,014	8,45	0,678	5,52	0,110	6,74	0,101	5,00	0,034	0,43
2	0,397	3,11	0,542	4,36	1,187	5,59	0,053	2,14	0,167	2,06	0,026	2,79	1,387	2,38	0,201	1,09	0,196	1,50	0,064	3,86
3	0,839	1,52	1,216	1,95	2,613	1,92	0,103	0,97	0,353	0,85	0,049	1,63	2,993	0,87	0,399	0,51	0,389	0,81	0,117	1,86
4	1,346	0,78	1,953	0,41	4,116	0,44	0,164	0,94	0,572	0,48	0,075	0,60	4,972	0,21	0,617	0,23	0,635	0,50	0,176	0,50
5	1,610	2,49	2,519	2,73	5,338	2,96	0,204	2,45	0,774	2,29	0,091	1,82	6,239	1,52	0,743	1,66	0,788	0,58	0,230	0,98
6	2,070	1,16	3,118	0,64	6,556	0,59	0,265	0,55	0,949	0,33	0,117	0,97	8,048	0,27	0,950	0,53	1,015	0,59	0,276	0,20

4.1.1. Curvas Analíticas

As curvas analíticas (Figuras 24 a 33) foram obtidas por meio dos dados apresentados na Tabela 16. A equação de regressão linear foi estabelecida pelo método dos mínimos quadrados e empregada na quantificação dos dez isômeros de truxilinas selecionados para análise. As concentrações utilizadas em cada ponto da curva para cada isômero estão detalhadas na Tabela 10.

Nos controles diários de soluções do padrão RTI-DEA, a exatidão (erro relativo) obtida foi sempre menor que 15% e a precisão (coeficiente de variação) sempre menor que 7%. Deve-se destacar que tais controles foram submetidos ao mesmo procedimento descrito no subitem 3.2.2.a, sendo 3 ou 6 replicatas injetadas por dia, durante 18 dias (n= 90).

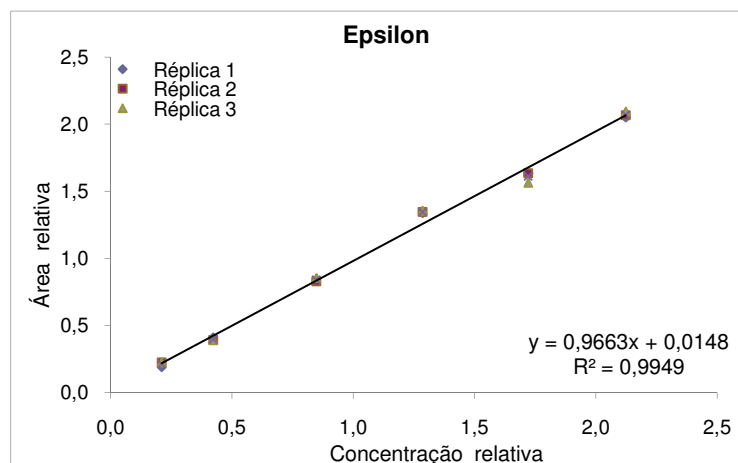


Figura 24 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Épsilon nas concentrações de 0,84 a 8,50 µg/mL.

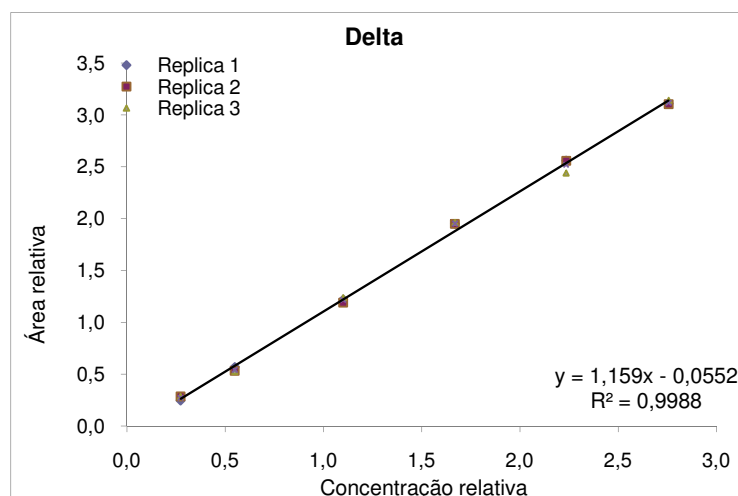


Figura 25 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Delta nas concentrações de 1,09 a 11,05 µg/mL.

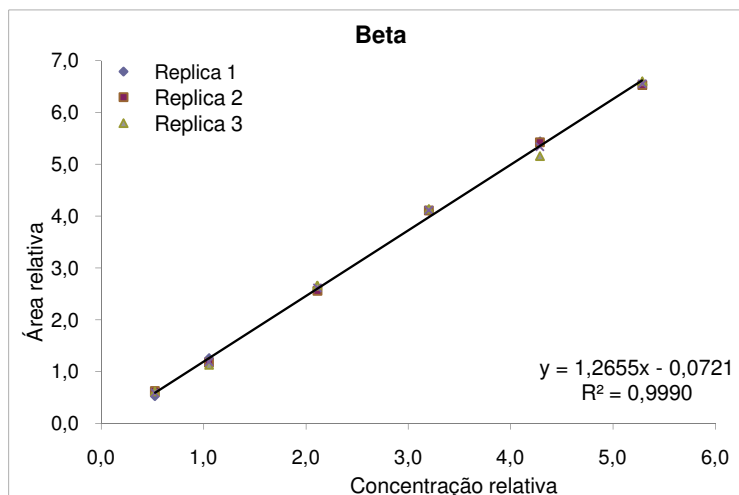


Figura 26 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Beta nas concentrações de 2,10 a 21,18 $\mu\text{g/mL}$.

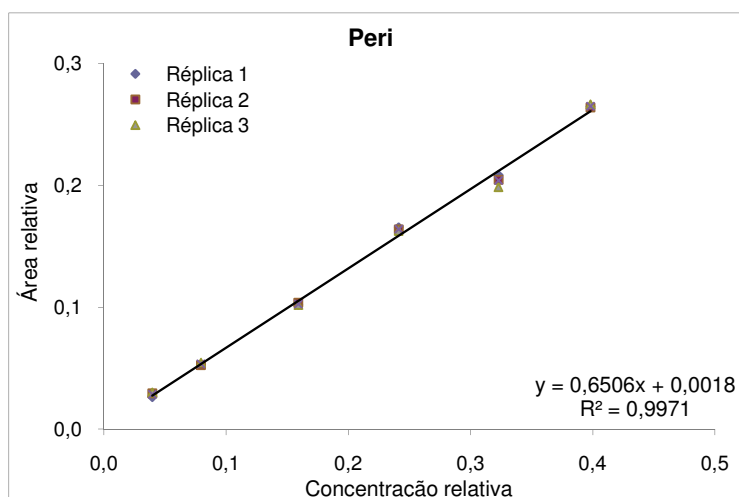


Figura 27 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Peri nas concentrações de 0,16 a 1,60 $\mu\text{g/mL}$.

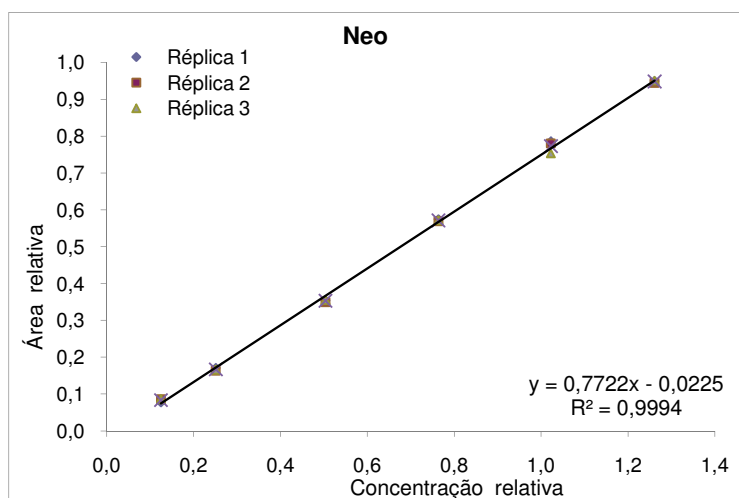


Figura 28 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Neo nas concentrações de 0,13 a 1,26 $\mu\text{g/mL}$.

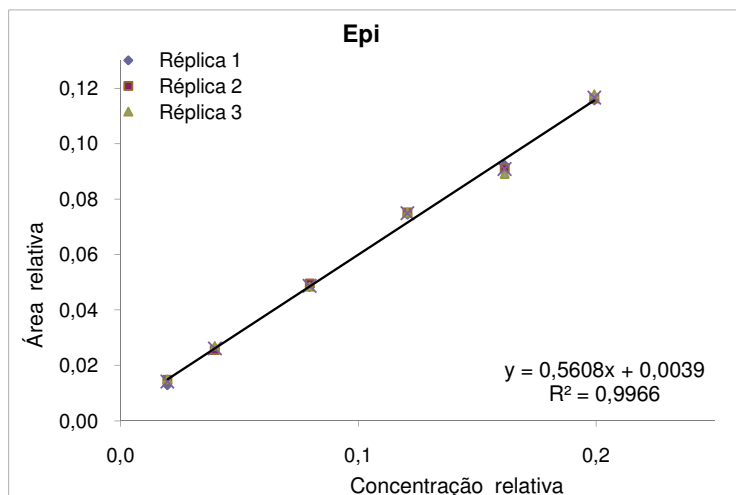


Figura 29 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Epi nas concentrações de 0,02 a 0,20 µg/mL.

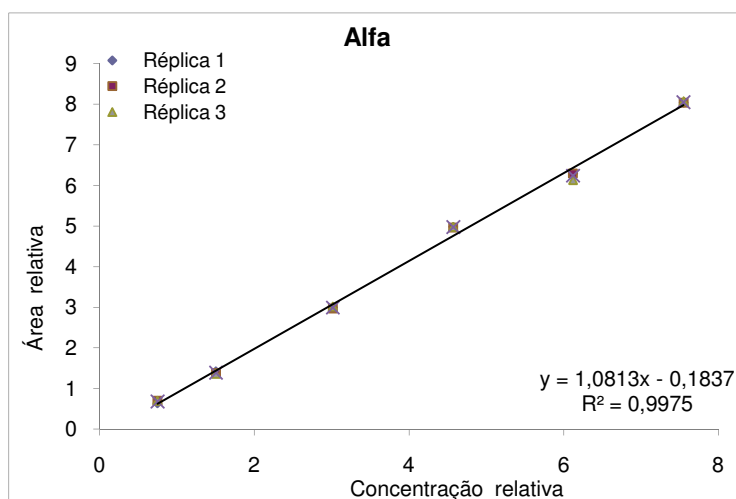


Figura 30 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Alfa nas concentrações de 0,75 a 7,54 µg/mL.

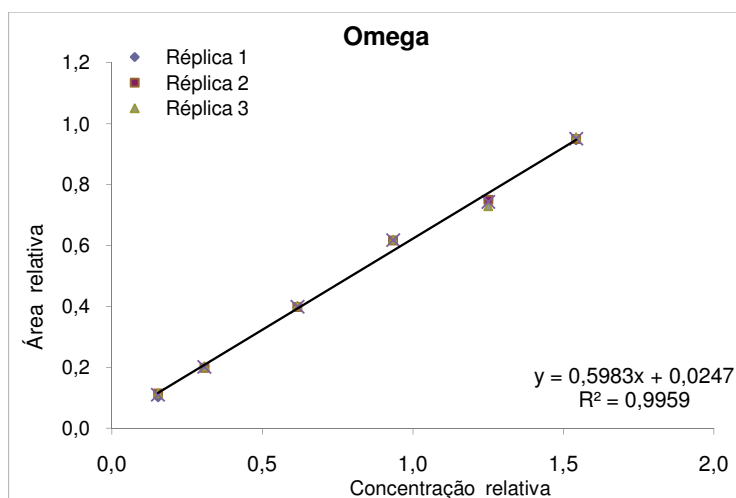


Figura 31 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Omega nas concentrações de 0,15 a 1,54 µg/mL.

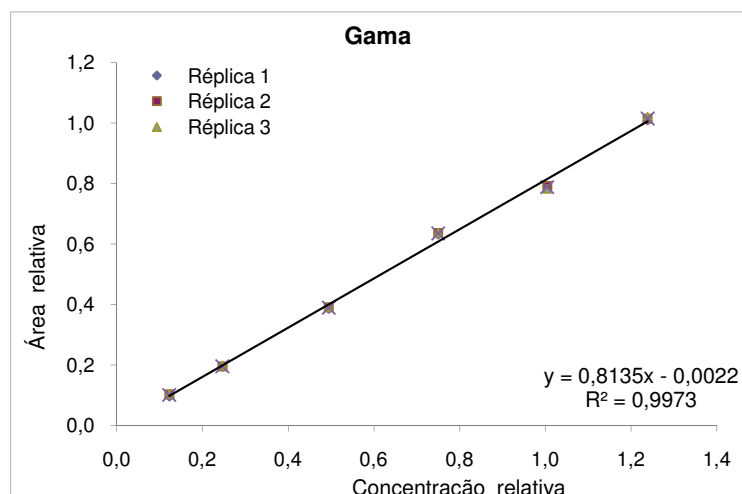


Figura 32 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Gama nas concentrações de 0,12 a 1,24 µg/mL.

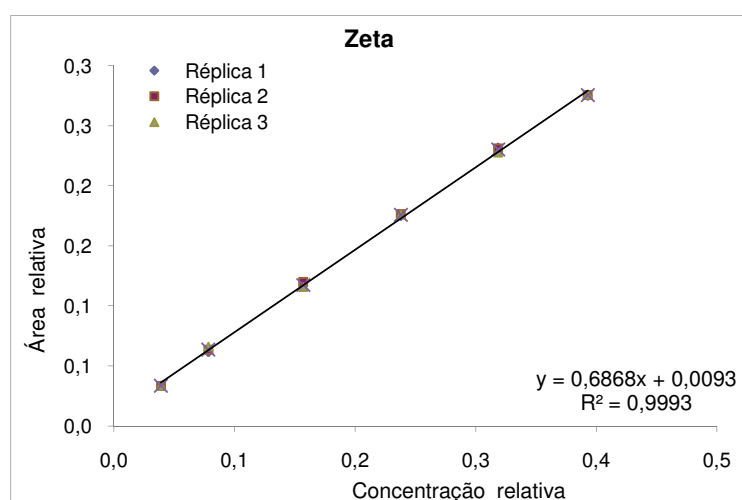


Figura 33 - Representação da curva analítica para a determinação do isômero Zeta nas concentrações de 0,04 a 0,39 µg/mL.

4.1.2. Limite de detecção e de quantificação

Tanto o limite de detecção quanto o limite de quantificação da técnica de CG/ECD para a análise de truxilinas foram estimados para os isômeros peri, epi, gama e zeta. Para o primeiro, obtiveram-se valores entre 8 e 19 µg/L, enquanto que para o segundo os valores situaram-se entre 39 e 80 µg/L. Estas faixas foram consideradas como válidas para as demais truxilinas.

Cabe ressaltar que por este método foram detectados os derivados di-heptafluorobutíricos dos diois truxilil e truxinil.

4.1.3. Resultados das análises das amostras e classificação por origem geográfica

Baseado no trabalho de Moore *et al.*²¹, pode-se sugerir a origem geográfica de amostras de cocaína de acordo com o seu teor total de truxilinas. Amostras com teor total de truxilinas menor que 3% são classificadas como de origem boliviana; amostras com teor total entre 3% e 4,9% são classificadas como de origem peruana; e amostras com teor total maior que 4,9% são classificadas como de origem colombiana.

Nas Figuras 34 e 35 são apresentadas as origens geográficas das amostras analisadas baseadas no teor total de truxilinas por CG/DCE, sendo que na Figura 35 as origens estão separadas por forma de apresentação da cocaína. Na Tabela 17, estão resumidos os resultados de classificação de origem geográfica das amostras, separadas por estado de apreensão.

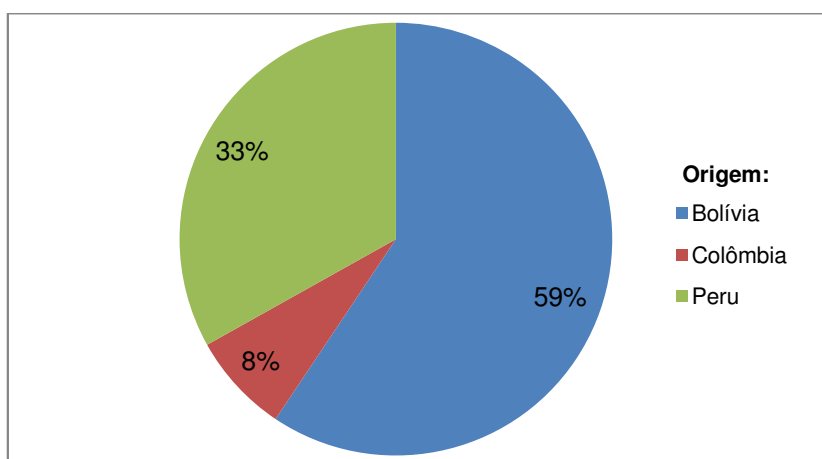


Figura 34 - Origem geográfica das amostras, de acordo com o teor total de truxilinas por CG/ECD. (n=160)

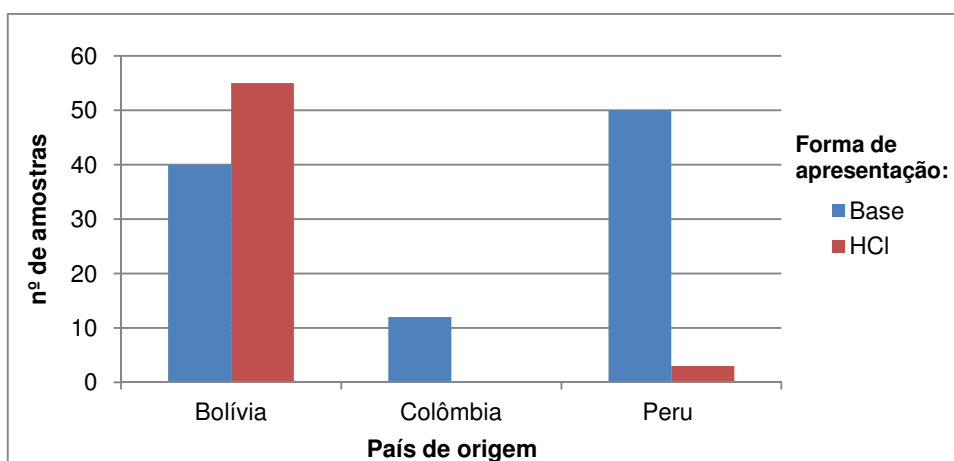


Figura 35 - Origem geográfica das amostras analisadas separadas conforme a sua forma de apresentação. (n=160)

Tabela 17 - Origem geográfica das amostras analisadas por estado de apreensão de acordo com o teor total de truxilinas por CG/ECD. (n=160).

Estado	País de origem			Total
	Bolívia	Colômbia	Peru	
AC	3	0	13	16
AM	6	9	0	15
RO	6	2	12	20
DF	12	0	4	16
MS	7	1	6	14
MT	9	0	7	16
PR	33	0	6	39
SP	19	0	5	24

Os teores totais de truxilinas, obtidos por CG/ECD, variaram de 0,28 a 11,89%, com média de 2,75% em relação ao teor de cocaína. Os resultados detalhados dos teores totais de truxilinas, obtidos pela técnica de CG/DCE, nas amostras analisadas estão detalhados no Apêndice 1 desta dissertação.

4.2. Metodologia de identificação e quantificação de truxilinas por CLAE/TOF-EM

4.2.1. Resultados qualitativos

A Figura 36 apresenta o cromatograma reconstruído da extração do íon (EIC) de m/z 659,3327, íon monocarregado das truxilinas, após injeção da solução do padrão RTI-DEA em metanol. Como se pode notar é possível identificar 9 dos dez isômeros das truxilinas.

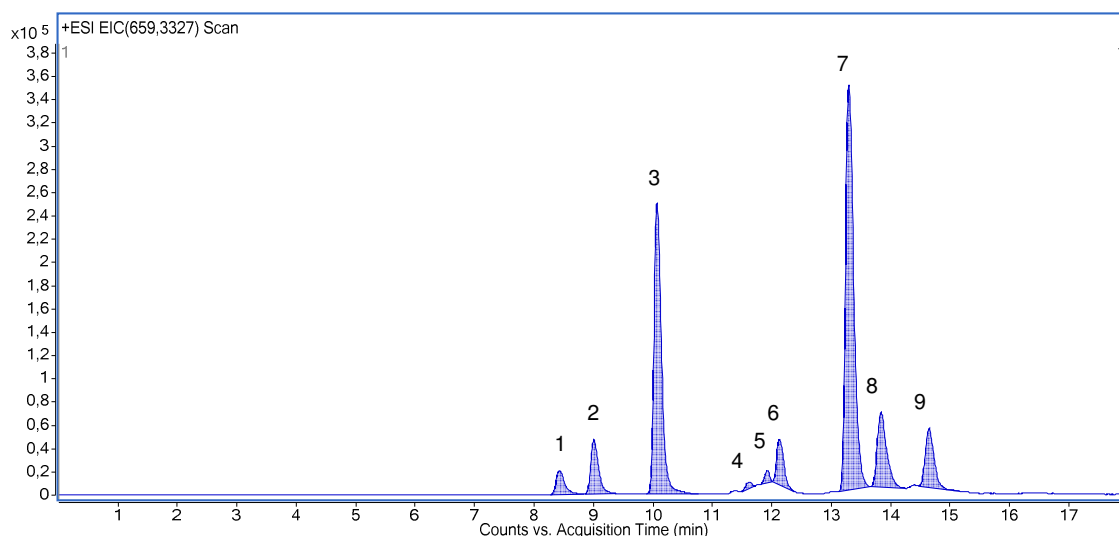


Figura 36 - Cromatograma reconstruído (EIC), padrão RTI-DEA em metanol, do íon de m/z 659,3327, íon $[M+H]^+$ das truxilinas.

A Figura 37 apresenta o espectro de massas de um dos picos das truxilinas identificadas no cromatograma anterior.

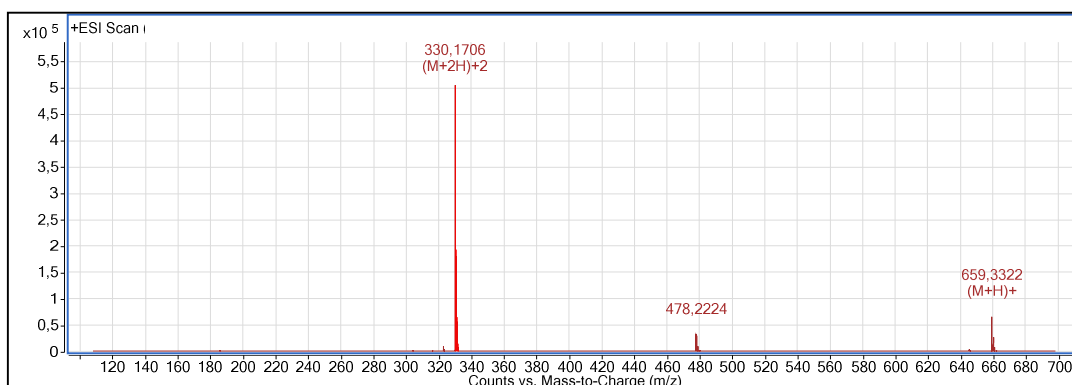


Figura 37 - Espectro de massas do pico 3 da Figura 22, no tempo de retenção 10,11 minutos. Destaque para o íon $[M+H]^+$: 659,3327 e $[M+2H]^{2+}$: 330,1706, ambos íons moleculares das truxilinas.

A Figura 38 mostra que o íon duplamente carregado das truxilinas possui a mesma massa exata teórica do íon mono carregado das cinamoilcocaínas (m/z 330,1700), porém as truxilinas apresentam o íon m/z 330,6721, que está ausente na distribuição isotópica das cinamoilcocaínas.

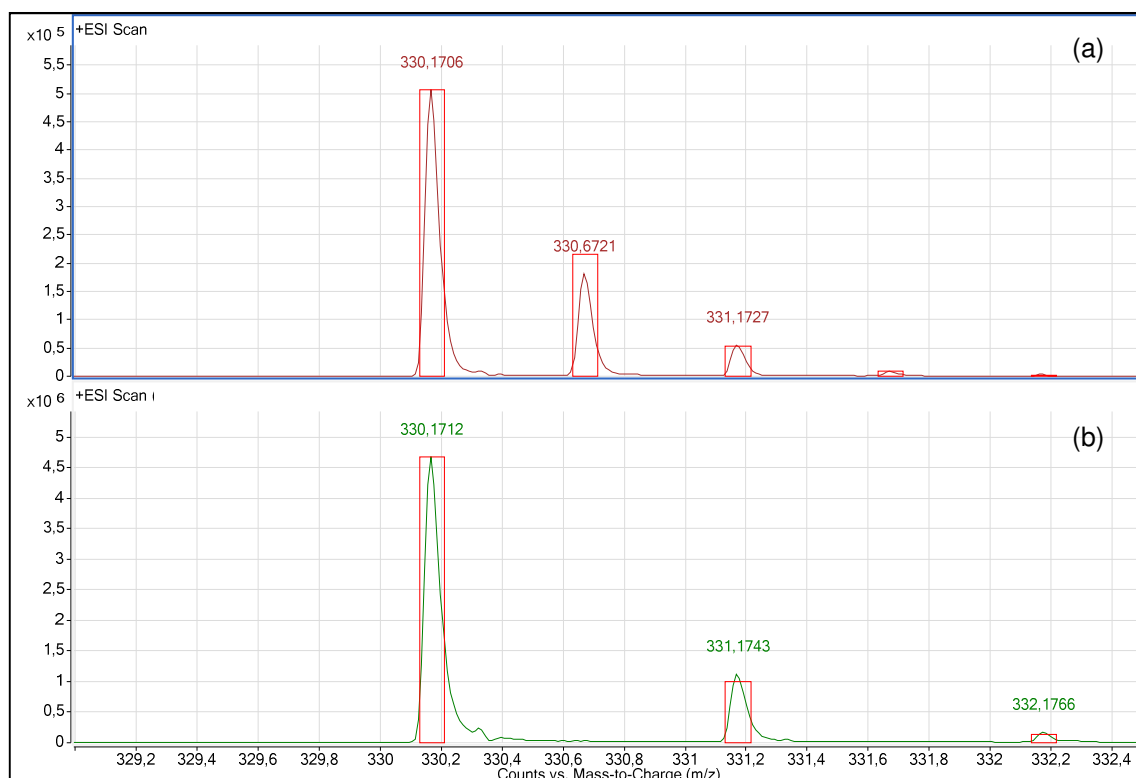


Figura 38 - Comparação entre a ampliação dos espectros de massas do íon duplamente carregado das truxilinas (a) e o íon monocarregado da trans-cinamoilcocaína (b).

A Figura 39 apresenta uma comparação entre os cromatogramas de extração de íons de m/z 330,1700, que inclui a contribuição dos íons monocarregado das cinamoilcocaínas e o duplamente carregado das truxilinas; do íon de m/z 330,6716; e do íon m/z 659,3327, ambos só presentes nos espectros de massas das truxilinas.

A Tabela 18 detalha as distribuições isotópicas obtidas experimentalmente e calculadas dos íons mono e duplamente carregados das truxilinas e do íon monocarregado das cinamoilcocaínas.

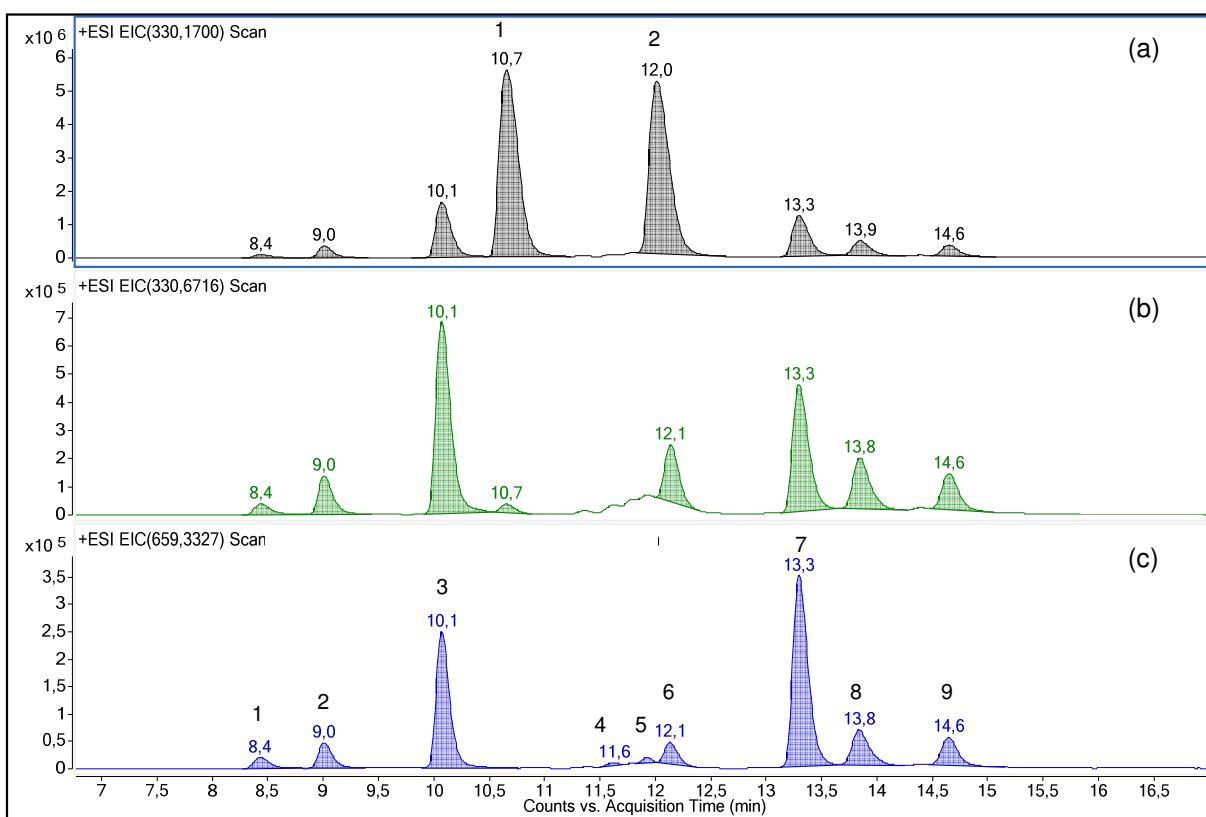


Figura 39 - Ampliação dos cromatogramas reconstruídos (EIC), injeção do padrão RTI-DEA em metanol: (a) cromatograma do íon de m/z 330,1700 (1 e 2: cis e trans-cinamoilcocaína); (b) cromatograma do íon de m/z 330,6716; (c) cromatograma do íon m/z 659,3327 (mesma numeração da Figura 22).

Tabela 18 - Medidas de massas exatas e abundância isotópica experimentais e calculadas dos íons mono e duplamente carregados das truxilinas e cinamoilcocaínas.

Analito	Íon selec.	Abundância % (altura) exp	Abundância % (altura) calc	m/z exp	m/z calc	Erro (ppm)
Truxilinas (C ₃₈ H ₄₆ N ₂ O ₈)	[M+H] ⁺	100,0	100,0	659,3322	659,3327	0,64
		39,5	42,7	660,3363	660,3360	-0,47
		9,8	10,5	661,3384	661,3389	0,74
		2,2	1,9	662,3395	662,3417	3,39
		0,6	0,3	663,3462	663,3444	-2,62
	[M+2H] ²⁺	100,0	100,0	330,1706	330,1700	-1,87
		35,8	42,7	330,6721	330,6716	-1,46
11,0		10,5	331,1727	331,1731	1,13	
Cinamoil- cocaína (C ₁₉ H ₂₃ NO ₄)	[M+H] ⁺	100	100	330,1709	330,1700	-2,64
		23,5	21,3	331,1740	331,1733	-2,12
		3,3	3,0	332,1766	332,1759	-2,06
		0,3	0,3	333,1789	333,1785	-1,09
		1,7	1,9	331,6757	331,6745	-3,74
		11,0	10,5	331,1727	331,1731	1,13

Além dos íons mono e duplamente carregados das truxilinas foi possível detectar quatro produtos derivados das truxilinas (Tabela 19 e Figura 40) pela metodologia proposta. Tais compostos já haviam sido descritos por Moore *et al.*²¹, como sendo produtos da hidrólise das truxilinas.

Esses produtos foram detectados ao longo do cromatograma, alguns destes íons coeluem com os íons das truxilinas, outros estão separados, por isso acredita-se que alguns deles possam ter origem também na fragmentação das truxilinas na fonte de ionização *electrospray*.

Tabela 19 - Medidas de massas exatas experimentais e calculadas dos produtos detectados de hidrólise das truxilinas.

Analito	Fórmula	Íon	m/z exp	m/z calc	Erro (ppm)
Produto 1	C ₃₇ H ₄₄ N ₂ O ₈	[M+H] ⁺	645,3173	645,3170	-0,28
Produto 2	C ₃₆ H ₄₂ N ₂ O ₈	[M+H] ⁺	631,3010	631,3014	0,74
Produto 3*	C ₂₈ H ₃₁ NO ₆	[M+H] ⁺	478,2225	478,2224	-0,14
Produto 4	C ₂₇ H ₂₉ NO ₆	[M+H] ⁺	464,2071	464,2068	-0,74

* Este composto pode ser observado no espectro de massas da Figura 37.

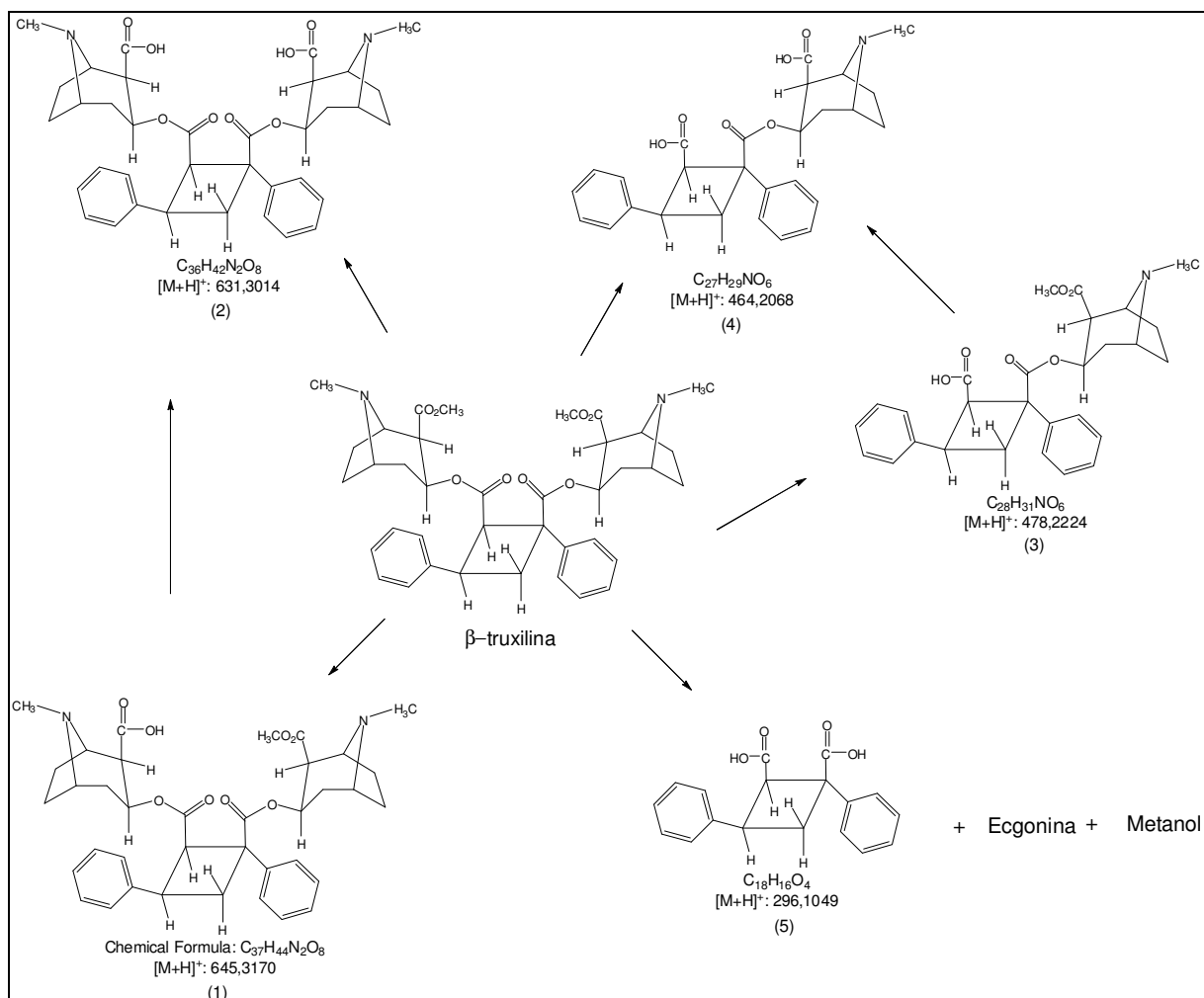


Figura 40 - Estruturas dos produtos de hidrólise do isômero beta das truxilinas, em amostras de cocaína refinadas, de acordo com numeração da Tabela 19.

4.2.2. Otimização das condições analíticas

As condições cromatográficas para o método foram otimizadas e os parâmetros cromatográficos para as condições propostas encontram-se expressos nas Tabelas 20 e 21.

Tabela 20 - Tempo de retenção, retenção relativa, fator de retenção e fator de alargamento dos picos cromatográficos obtidos para as truxilinas e padrão interno (PI).^a

Analito	Tempo de ret. (min)	Retenção relativa ^b	k'	T _f
Atropina (PI)	6,4	1,00	6,1	1,3
Truxilina 1	8,5	1,31	8,4	1,9
Truxilina 2	9,1	1,41	9,0	1,4
Truxilina 3	10,1	1,58	10,2	1,4
Truxilina 4	11,7	1,81	11,9	0,7
Truxilina 5	11,9	1,86	12,3	0,8
Truxilina 6	12,2	1,89	12,5	1,6
Truxilina 7	13,3	2,08	13,8	1,4
Truxilina 8	13,9	2,16	14,4	1,7
Truxilina 9	14,7	2,30	15,3	1,9

^a A numeração das truxilinas está de acordo com a Figura 22.

^b Tempo de retenção do analito dividido pelo tempo de retenção do padrão interno.

Tabela 21 - Parâmetros cromatográficos utilizados para avaliar a eficiência na separação dos analitos nas condições cromatográficas propostas.

Analito	Fator de separação (α)	Resolução (R _s)
Atropina (PI)	-	71,6
Truxilina 1	1,38	9,6
Truxilina 2	1,07	2,4
Truxilina 3	1,13	4,9
Truxilina 4	1,17	6,1
Truxilina 5	1,03	1,0
Truxilina 6	1,02	0,8
Truxilina 7	1,10	4,8
Truxilina 8	1,04	2,0
Truxilina 9	1,06	2,7

4.2.3. Curva Analítica

A curva analítica (Figura 41) foi obtida por meio dos dados apresentados na Tabela 22. A equação de regressão linear foi estabelecida pelo método dos mínimos quadrados e foi empregada na quantificação do total de truxilinas nas amostras.

Tabela 22 - Áreas relativas totais obtidas para a elaboração da curva analítica de truxilinas e respectivos desvio padrão (DP) e coeficientes de variação (%CV).

Ponto	Concentração (mg/L)	Área relativa total (média)	DP	CV (%)
1	5,76	0,3683	0,0107	2,91
2	11,52	0,9612	0,0260	2,70
3	23,05	2,3038	0,0346	1,50
4	34,57	3,7877	0,0979	2,58
5	46,10	5,2406	0,1501	2,86
6	57,62	6,6815	0,1545	2,31
7	72,02	8,4555	0,0460	0,54

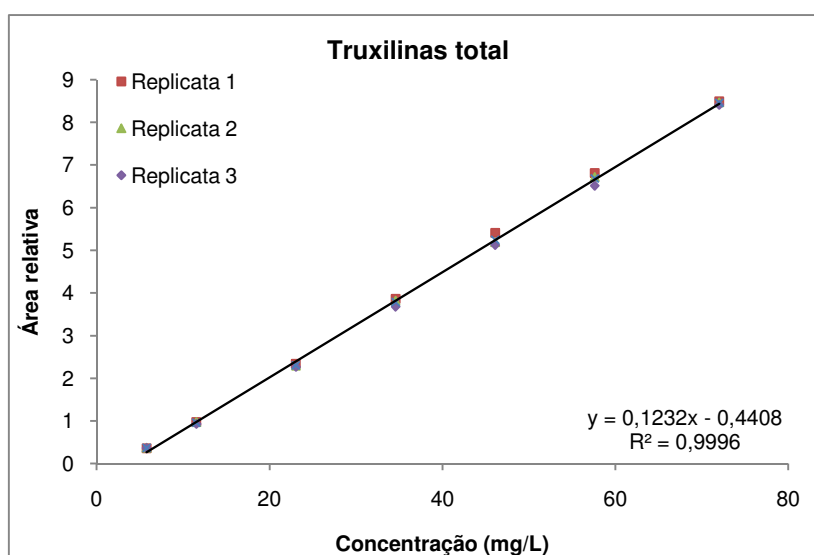


Figura 41 - Representação da curva analítica para a determinação do total de truxilinas nas concentrações de 5,8 a 72,0 mg/L.

4.2.4. Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção e de quantificação da técnica de CLAE/EM proposta para a análise de truxilinas foram estimados para as truxilinas 3 e 5. Para o primeiro obtiveram-se valores entre 170 e 240 $\mu\text{g/L}$, para o íon de quantificação de m/z 659,3327. Já para o segundo, obtiveram-se valores entre 330 e 480 $\mu\text{g/L}$, para o íon de quantificação de m/z 659,3327. Estas faixas foram consideradas como válidas para as demais truxilinas.

Para se obterem os limites de detecção e quantificação, as truxilinas 3 e 5 foram consideradas como sendo os isômeros beta e alfa, respectivamente, em virtude de serem os isômeros com maiores teores no padrão RTI-DEA. É importante frisar que para os demais isômeros não é possível fazer esta inferência com segurança.

4.2.5. Precisão e exatidão intraensaio e interensaio

Os coeficientes de variação (precisão) e erros relativos (exatidão) obtidos para o método proposto nas análises de soluções com concentrações totais baixa, média e alta de truxilinas estão expressas na Tabela 23.

Tabela 23 - Precisão e exatidão do método proposto para quantificação de truxilinas, em três concentrações diferentes.

	Concentração Baixa		Concentração Média		Concentração Alta	
	Interdia (n=6)	Intradia (n=18)	Interdia (n=6)	Intradia (n=18)	Interdia (n=6)	Intradia (n=18)
Precisão (CV %)	4,04	4,61	4,28	5,92	2,16	6,77
Exatidão (Erro relativo %)	0,69	4,26	-2,47	6,02	0,76	6,72

4.2.6. Resultados das análises de amostras por CLAE/EM

Os resultados detalhados dos teores totais de truxilinas, obtidos pela técnica proposta, nas amostras analisadas estão detalhados no Apêndice 2.

4.3. Análises de alcaloides e adulterantes por CLAE/TOF-EM

A Tabela 24 apresenta os alcaloides e adulterantes comumente encontrados em amostras de cocaína, que puderam ser detectados pelo método de CLAE/TOF-EM proposto. Como descrito no item 3.2.2.b, a aquisição de dados foi feita no modo scan, e os cromatogramas com os íons de cada analito foram reconstruídos pós-análise. Dessa forma, as corridas monitoraram simultaneamente as truxilinas ou outros alcaloides e os adulterantes. Os cromatogramas (EIC) dos alcaloides e adulterantes identificados estão mostrados nas Figuras 42 e 43, respectivamente.

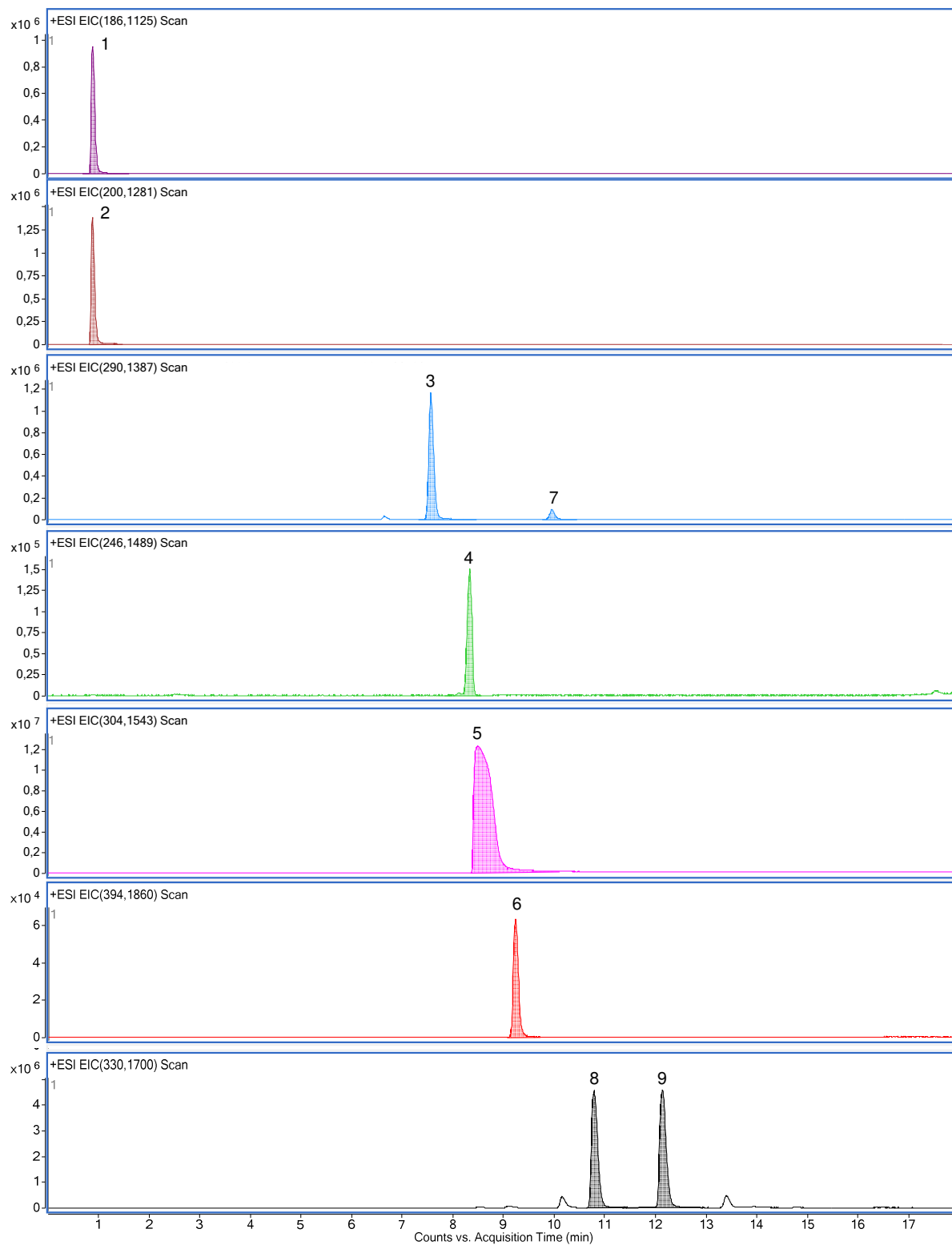


Figura 42 - Cromatogramas típicos reconstruídos (EIC) dos íons $[M+H]^+$ dos alcaloides investigados (padrões) em uma mesma injeção. Picos: mesma numeração da Tabela 24.

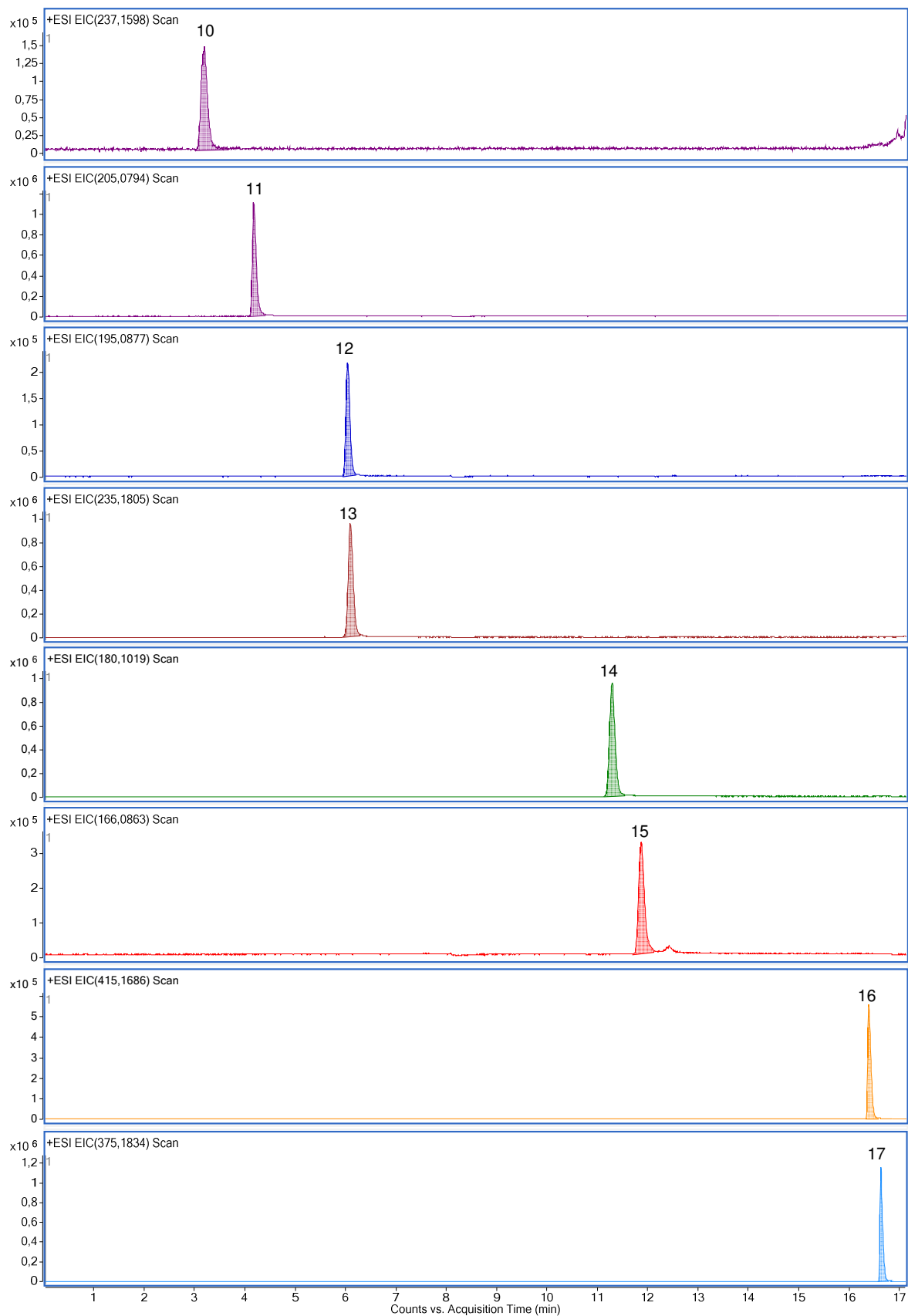


Figura 43 - Cromatogramas típicos reconstruídos (EIC) dos íons $[M+H]^+$ dos adulterantes investigados (padrões) em uma mesma injeção. Picos: mesma numeração da Tabela 24.

Tabela 24 - Medidas de massas exatas de padrões de alcaloides e adulterantes em solução de metanol por CLAE/TOF-EM.

	Analito	t _R (min)	Fórmula	Íon selec.	m/z exp.	m/z calc	Erro (ppm)
1	Ecgonina	0,9	C ₉ H ₁₅ NO ₃	[M+H] ⁺	186,1122	186,1125	1,56
2	Metilecgonina	0,9	C ₁₀ H ₁₇ NO ₃	[M+H] ⁺	200,1278	200,1281	1,77
3	Benzoilecgonina	7,3	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	[M+H] ⁺	290,1392	290,1387	-1,79
4	Tropacocaína	8,0	C ₁₅ H ₁₉ NO ₂	[M+H] ⁺	246,1485	246,1489	1,60
5	Cocaína	8,2	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	[M+H] ⁺	304,1552	304,1543	2,96
6	Trimetoxicocaína	9,2	C ₂₀ H ₂₇ NO ₇	[M+H] ⁺	394,1859	394,1860	0,22
7	Norcocaína	9,6	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	[M+H] ⁺	290,1387	290,1384	1,06
8	<i>Cis</i> -cinamoilcocaína	10,8	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	[M+H] ⁺	330,1706	330,1700	-1,95
9	<i>Trans</i> -cinamoilcocaína	12,1	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	[M+H] ⁺	330,1699	330,1700	0,35
10	Procaína	3,2	C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	237,1601	237,1598	-1,57
11	Levamisol	4,2	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ S	[M+H] ⁺	205,0796	205,0794	-0,76
12	Cafeína	6,0	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	[M+H] ⁺	195,0878	195,0877	-0,56
13	Lidocaína	6,1	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	[M+H] ⁺	235,1807	235,1805	-0,96
14	Fenacetina	11,3	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	180,1021	180,1019	-1,25
15	Benzocaína	11,9	C ₉ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	166,0866	166,0863	-2,10
16	Diltiazem	16,4	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₄ S	[M+H] ⁺	415,1693	415,1686	-1,66
17	Hidroxizina	16,6	C ₂₁ H ₂₇ ClN ₂ O ₂	[M+H] ⁺	375,1838	375,1834	-1,17

4.3.1. Curvas Analíticas

As concentrações utilizadas em cada ponto para construir as curvas analíticas, mostradas nas Figuras 44 a 49, estão detalhadas na Tabela 12. A equação de regressão linear foi estabelecida pelo método dos mínimos quadrados e empregada para verificar a faixa de linearidade dos alcaloides ecgonina, metilecgonina, benzoilecgonina, tropacocaína, trimetoxicocaína e *cis*-cinamoilcocaína, na metodologia proposta. Os dois pontos de maior concentração relativa mostrados nas Figuras de 43 a 46, e os quatro pontos de maior concentração relativa mostrados na Figura 48 não foram considerados para determinação das equações das retas. Tais pontos foram mantidos nas respectivas Figuras apenas para ilustrar as faixas de linearidade dos analitos, e estão excluídos das faixas de concentração informadas nas legendas das Figuras.

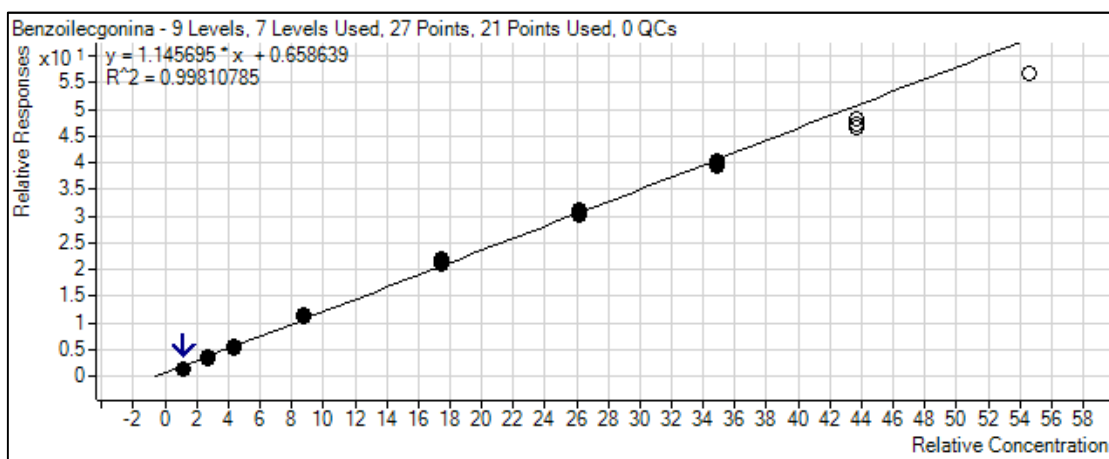


Figura 44 - Representação da curva analítica para a determinação de benzoilecgonina nas concentrações de 0,116 a 3,713 mg/L.

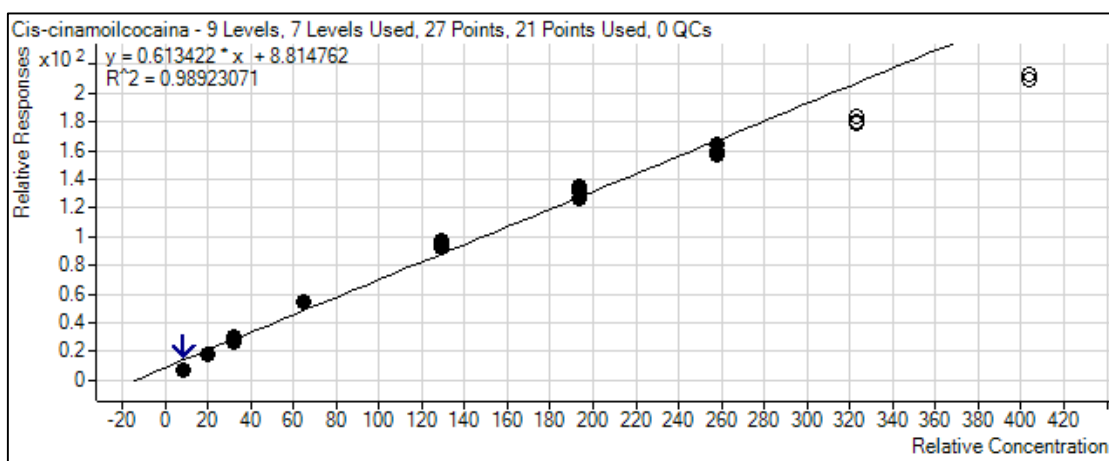


Figura 45 - Representação da curva analítica para a determinação de cis-cinamoilcocaina nas concentrações de 0,858 a 27,462 mg/L.

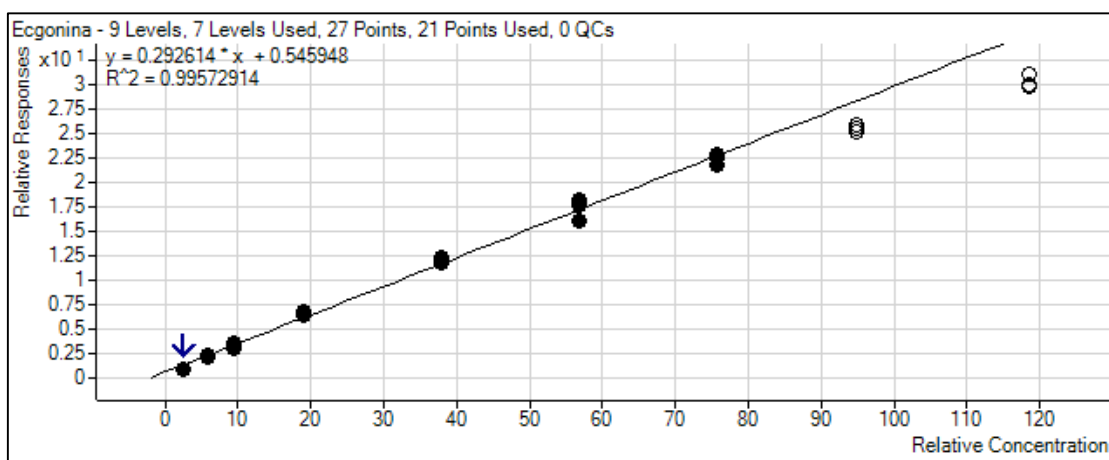


Figura 46 - Representação da curva analítica para a determinação de ecgonina nas concentrações de 0,252 a 8,063mg/L.

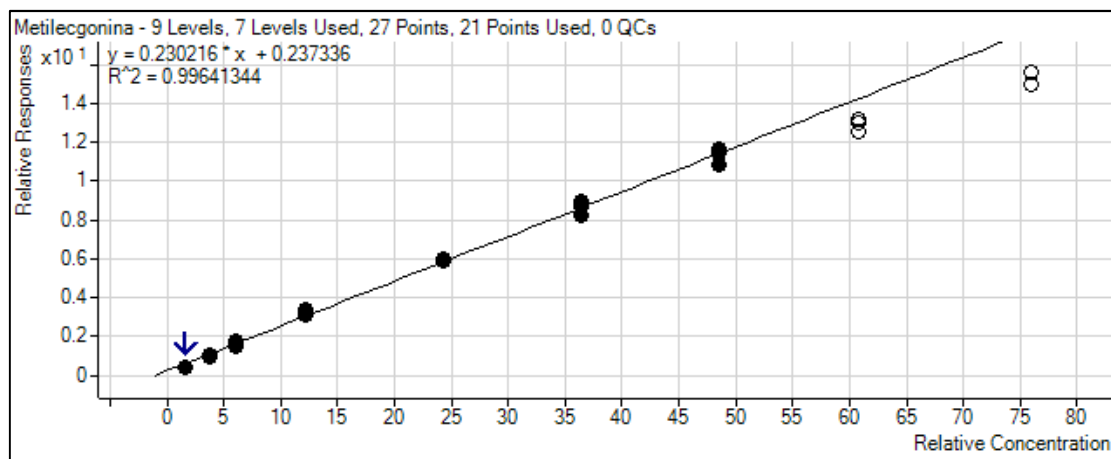


Figura 47 - Representação da curva analítica para a determinação da metilecgonina nas concentrações de 0,161 a 5,167 mg/L.

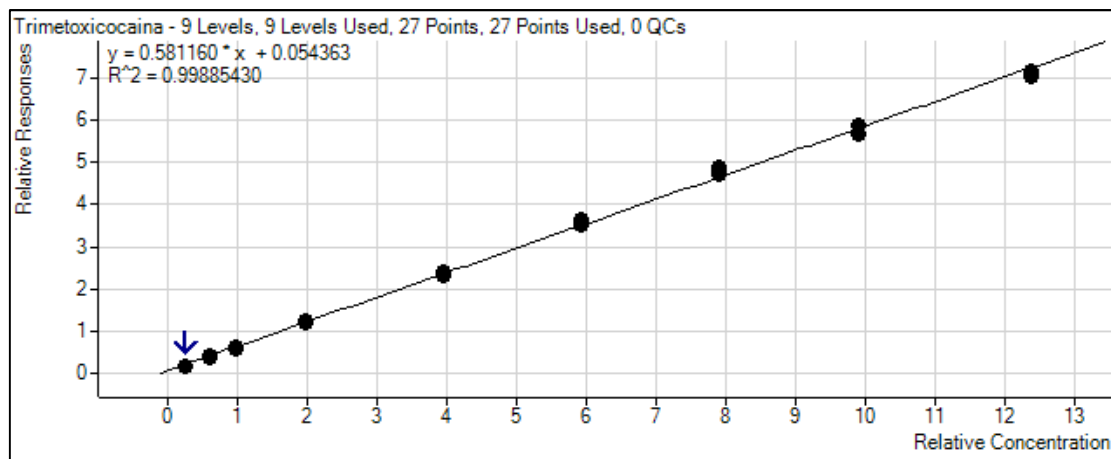


Figura 48 - Representação da curva analítica para a determinação da trimetoxicocaina nas concentrações de 0,026 a 1,316 mg/L.

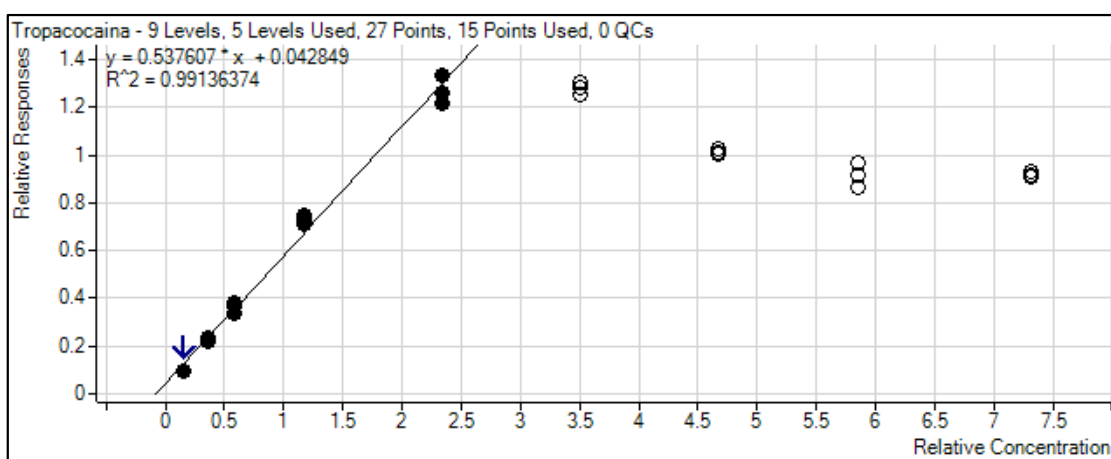


Figura 49 - Representação da curva analítica para a determinação da tropacocaina nas concentrações de 0,016 a 0,249 mg/L.

4.3.2. Limite de detecção

Os limites de detecção estabelecidos para os alcaloides investigados pela técnica de CLAE/EM proposta estão mostrados na Tabela 25.

Tabela 25 - Limites de detecção estabelecidos para os alcaloides pela metodologia proposta.

Alcaloide	Limite de detecção (µg/L)
Benzoilecgonina	5,8
Cis-cinamoilcocaína	4,3
Trans-cinamoilcocaína	4,9
Ecgonina	6,3
Metilecgonina	8,0
Trimetoxicocaína	2,6
Tropacocaína	3,9

4.4. Identificação de adulterantes nas amostras

A identificação de adulterantes nas amostras de cocaína analisadas foi realizada por CLAE/EM e confirmadas pelos resultados de CG/DIC, na mesma injeção utilizada para a quantificação de cocaína.

Na Figura 50 pode-se observar a presença de adulterantes no conjunto de amostras analisadas, sendo que pouco mais da metade não apresenta nenhum adulterante, o que não significa que possuam maiores teores de cocaína, já que podem apresentar em suas composições diluentes inorgânicos ou açúcares, por exemplo, que não foram objeto deste trabalho.

Os resultados obtidos mostram uma predominância da fenacetina como principal adulterante, encontrado em 35% das amostras. E esta é uma tendência também observada em todas as regiões analisadas.

Cabe ressaltar que algumas amostras apresentam mais de um adulterante, motivo pelo qual na Figura 50 a soma das porcentagens será maior que 100%.

As Figuras 51 a 54 mostram os mesmos resultados da Figura 49, porém separando as amostras por região de apreensão e identificando as que contêm mais

de um adulterante. Nessas Figuras, as regiões Sudeste e Sul são representadas, respectivamente, por São Paulo e Paraná.

Os resultados detalhados da presença de adulterantes no conjunto de amostras analisadas estão descritos no Apêndice 3 desta dissertação.

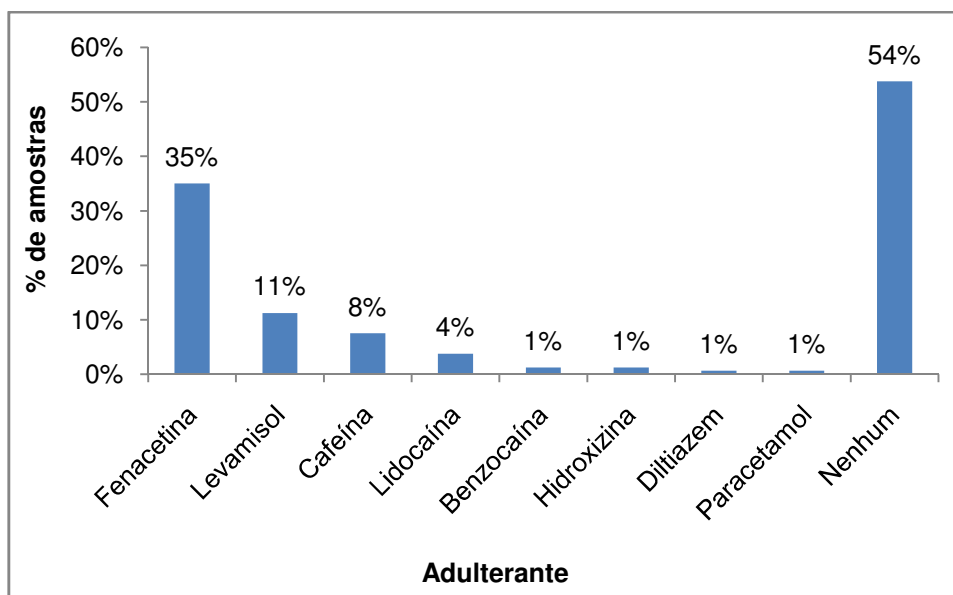


Figura 50 - Presença de adulterantes no total de amostras analisadas. (n=160)

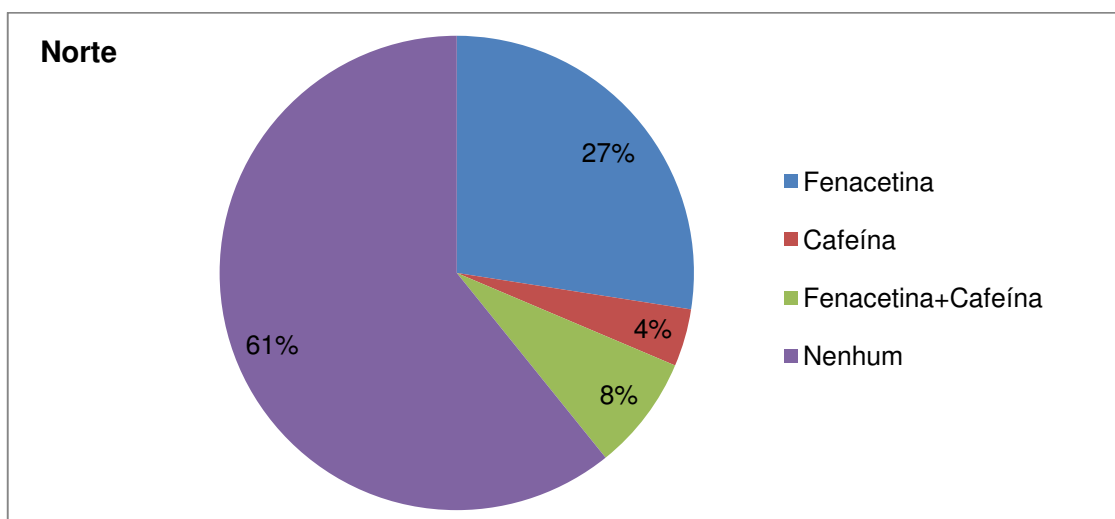


Figura 51 - Presença de adulterantes nas amostras provenientes da Região Norte. (n=51)

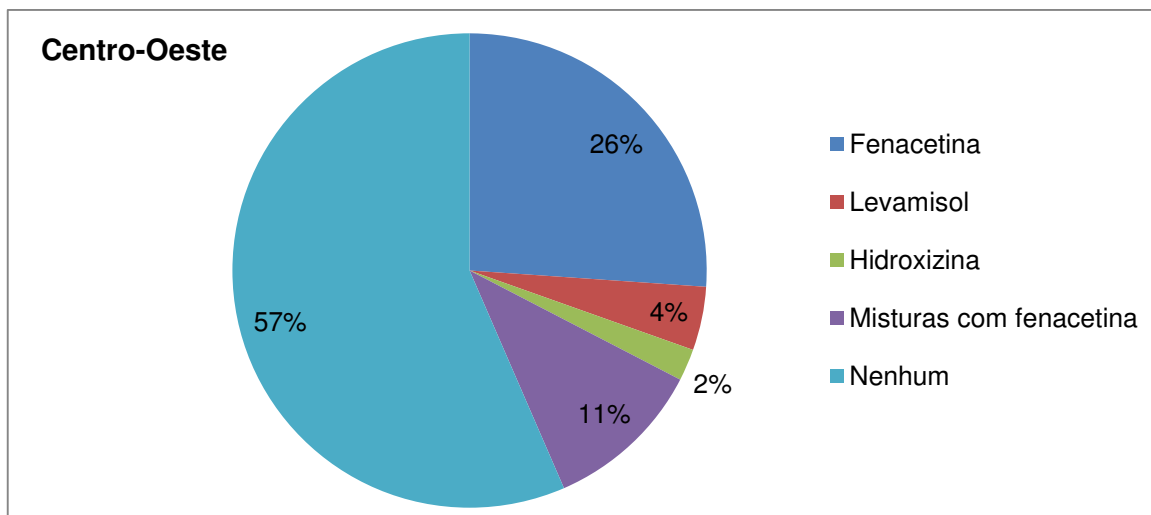


Figura 52- Presença de adulterantes nas amostras provenientes da Região Centro-Oeste. (n=46)

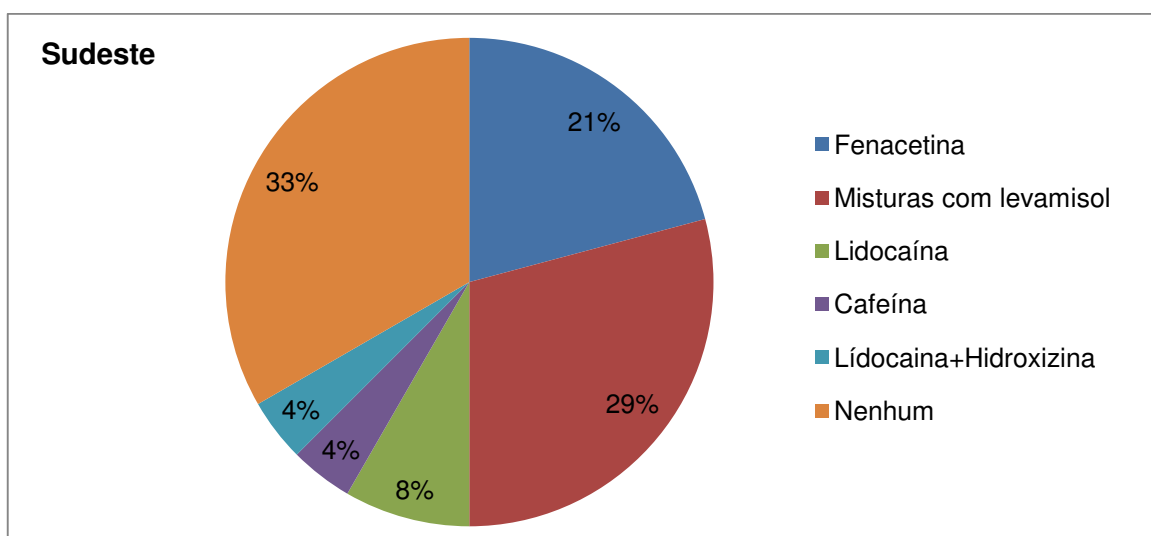


Figura 53 - Presença de adulterantes nas amostras provenientes da Região Sudeste. (n=24)

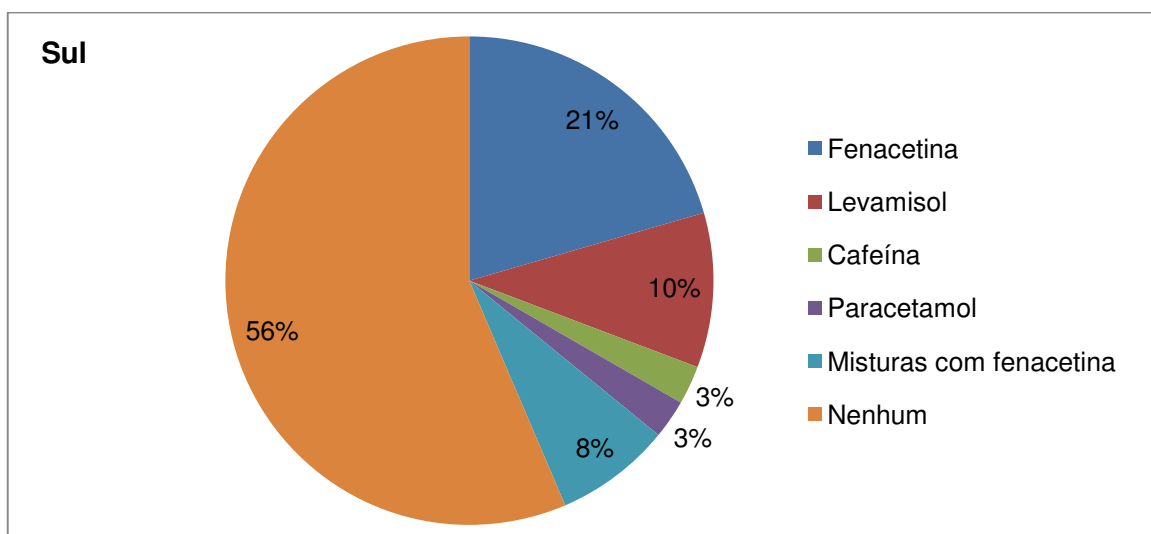


Figura 54 - Presença de adulterantes nas amostras provenientes da Região Sul. (n=39)

4.5. Determinação dos teores de cocaína nas amostras

Para o conjunto das 160 amostras analisadas foram observadas grandes variações no teor de cocaína (Apêndice 3), abrangendo o intervalo de 12,0% até 88,7% de pureza, sendo que o teor médio global foi de 70,5%. Os teores de cocaína foram expressos em porcentagem de cocaína na forma de base para todas as amostras independentemente de suas formas de apresentação.

Os teores médios de cocaína apresentaram valores próximos entre os estados, variando de 62,4% a 73,3% (Figura 55).

As Figuras 56 a 63 mostram a distribuição dos teores de cocaína nas amostras por estado. Pode-se constatar que a maioria das amostras (47,5%) apresentou teores entre 70 e 80% de cocaína. Observa-se que as amostras provenientes do Paraná apresentam os maiores teores de cocaína. De fato, aproximadamente metade (46,2%) das amostras provenientes deste estado apresentou alto teor de cocaína variando entre 80 e 90% de pureza.

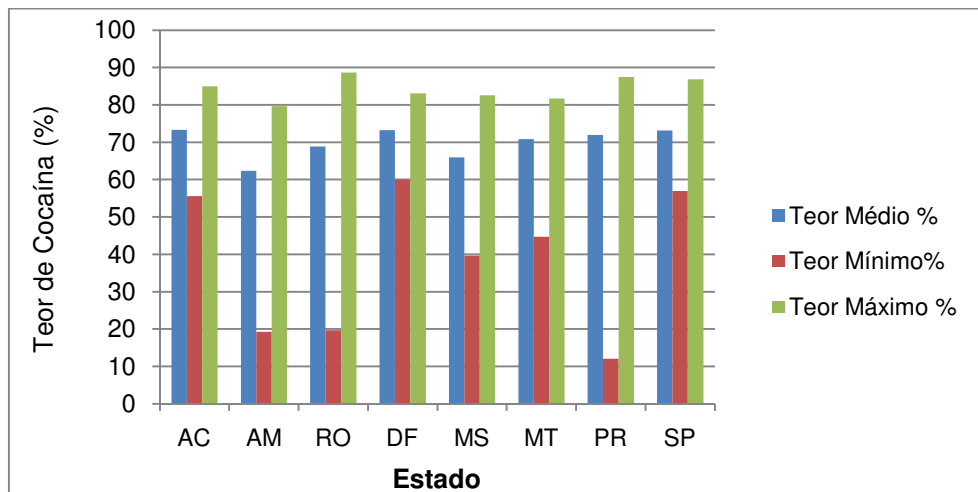


Figura 55 - Teores médio, mínimo e máximo de cocaína por estado, nas amostras analisadas.

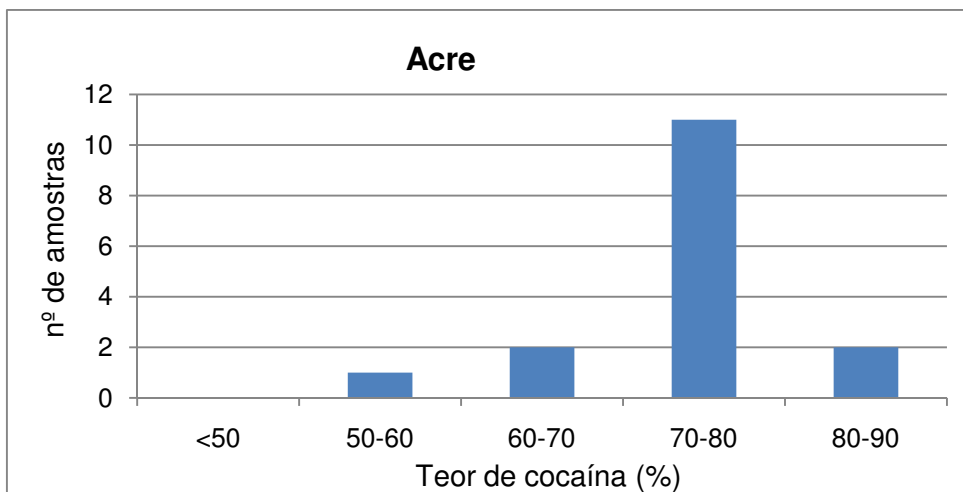


Figura 56 – Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Acre.

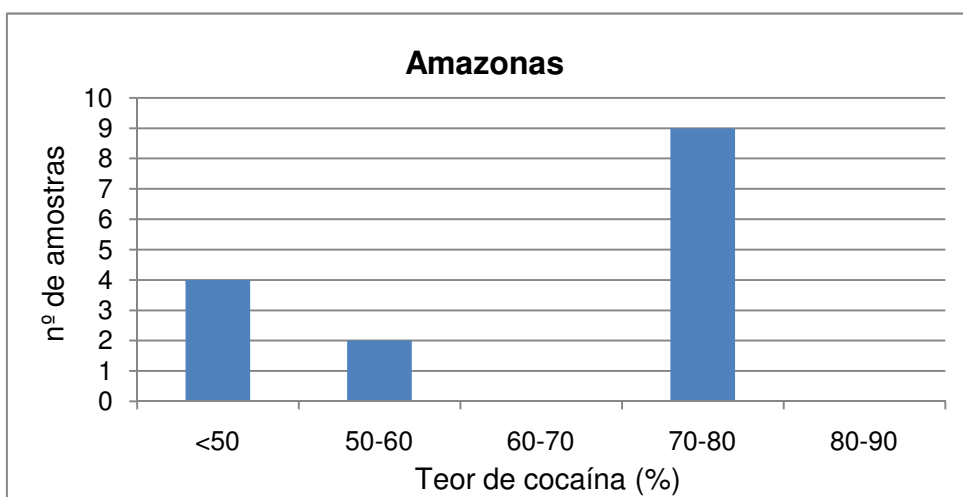


Figura 57 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Amazonas.

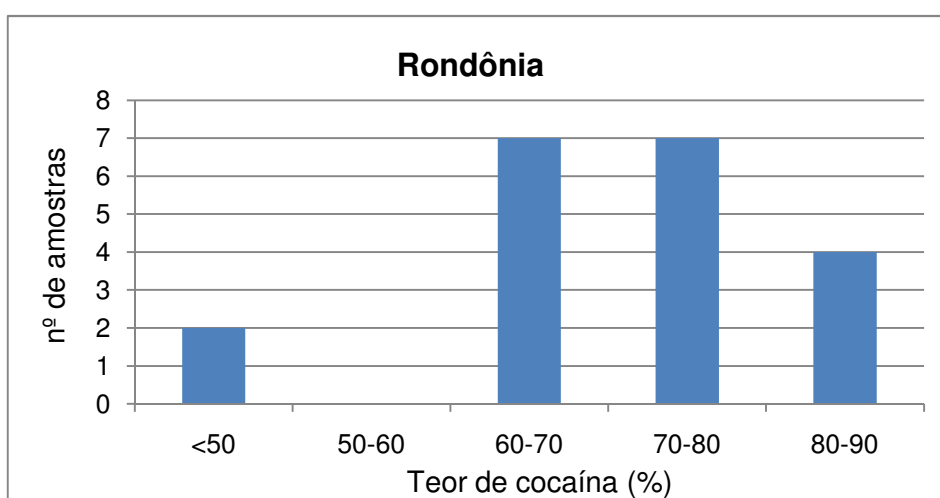


Figura 58- Distribuição dos teores de cocaína das amostras de Rondônia.

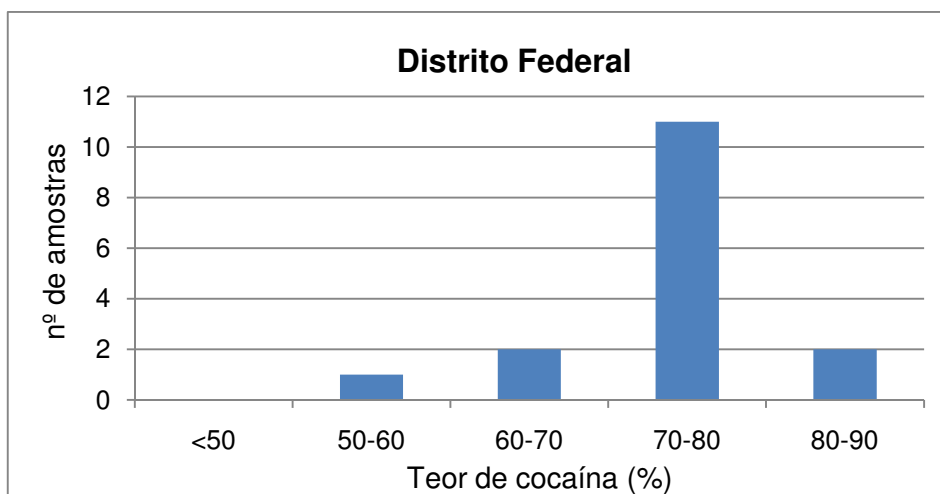


Figura 59 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Distrito Federal.

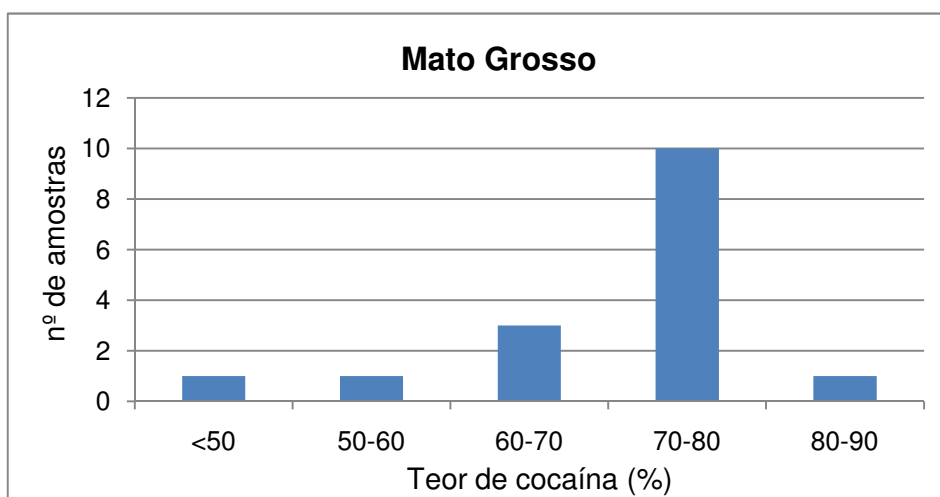


Figura 60 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras de Mato Grosso.

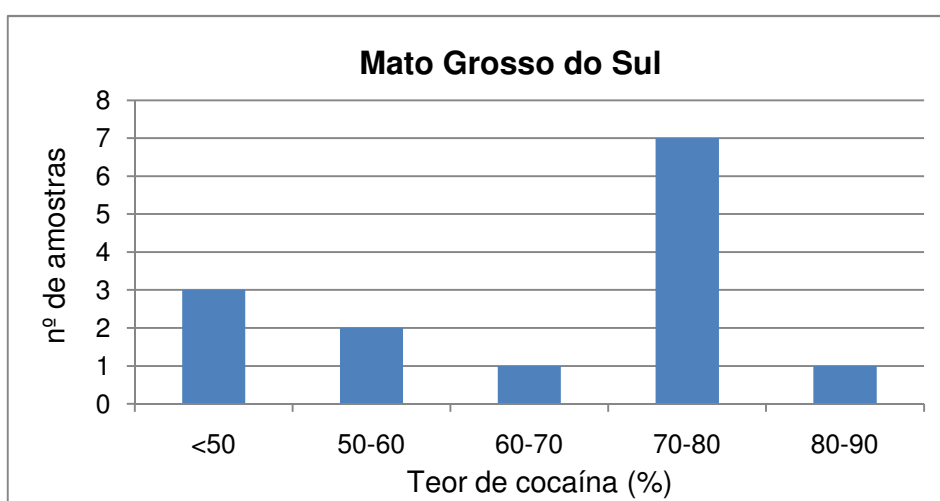


Figura 61 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Mato Grosso do Sul.

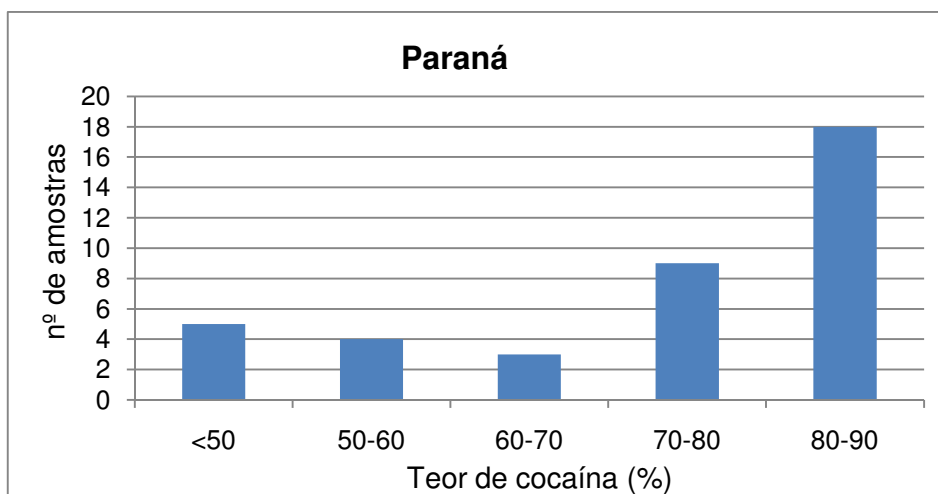


Figura 62 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras do Paraná.

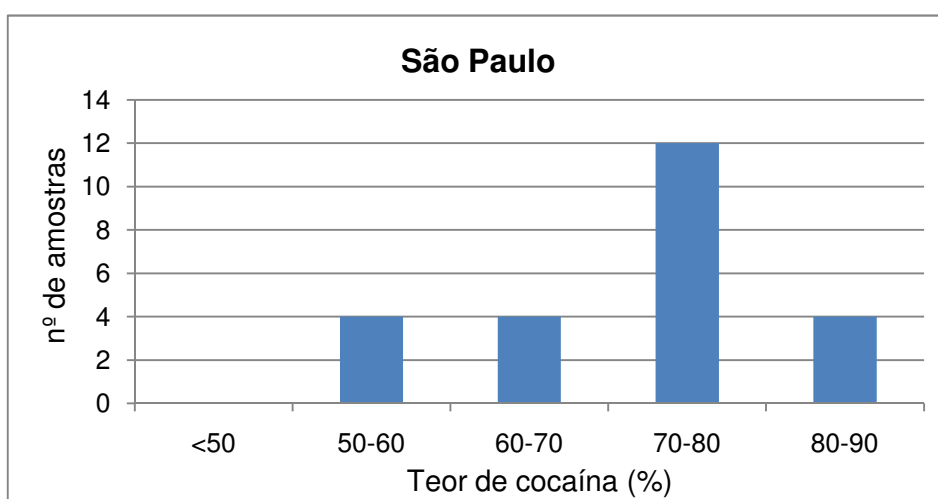


Figura 63 - Distribuição dos teores de cocaína das amostras de São Paulo.

4.6. Determinação dos teores de cis e trans-cinamoilcocaína e grau de oxidação das amostras.

Conforme discutido no item 1.7 o teor total de cinamoilcocaínas em uma amostra indica o grau de oxidação que ela sofreu durante o processo de refino. De acordo com a classificação sugerida por Casale⁶⁰, as amostras foram classificadas de acordo com o seu grau de oxidação a partir de seus teores de cinamoilcocaínas (relativos ao teor de cocaína). Amostras contendo menos do que 2% de cinamoilcocaínas são consideradas altamente oxidadas, amostras contendo entre 2% e 6% são consideradas medianamente oxidadas, e amostras contendo mais de 6% são consideradas levemente oxidadas ou não sofreram nenhuma oxidação.

A partir desta classificação os resultados demonstram que a minoria das amostras sofreu alta oxidação (Figura 64) e também que a maioria das amostras de cocaína na forma de base sofreu baixa oxidação ou não foram oxidadas (Figura 65). Por outro lado, as amostras na forma de cloridrato (Figura 66), em sua maioria sofreram média ou alta oxidação.

Na Figura 67 está detalhada a distribuição das amostras por estado considerando o grau de oxidação das mesmas.

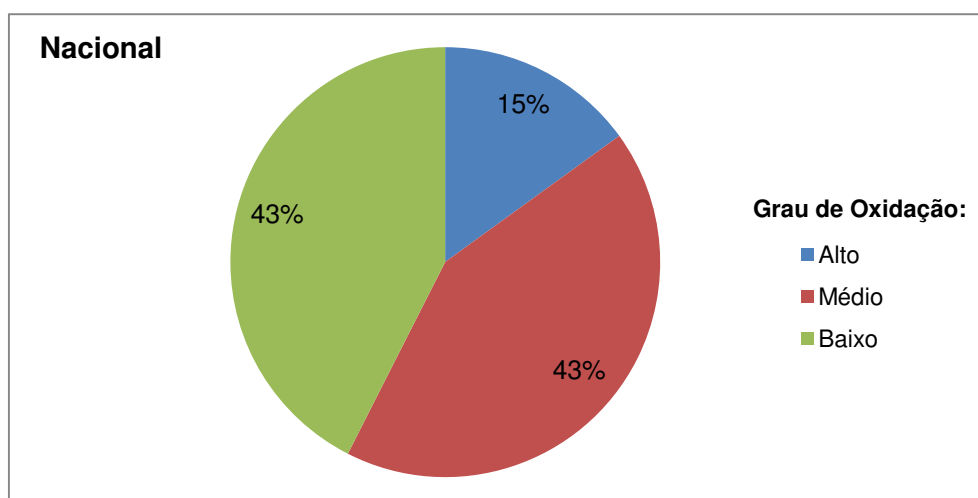


Figura 64 - Grau de oxidação de todas as amostras analisadas.

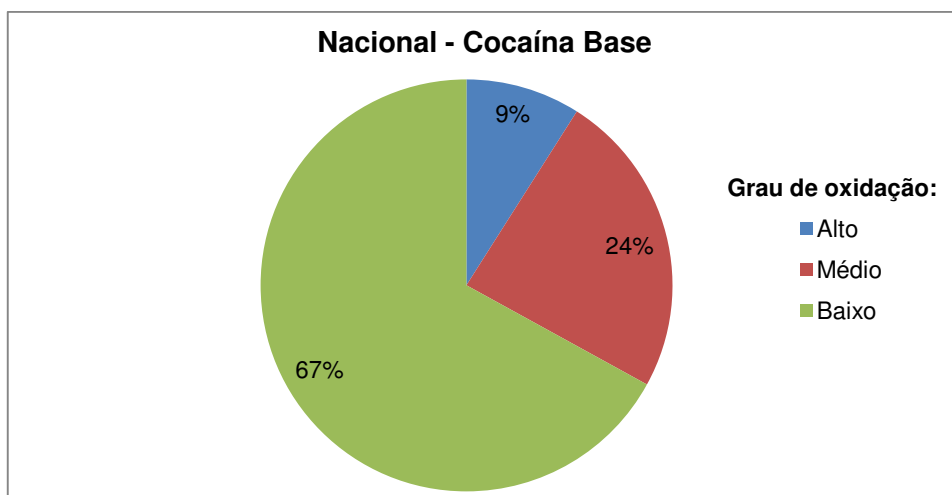


Figura 65 - Grau de oxidação de amostras de cocaína na forma de base.



Figura 66 - Grau de oxidação em amostras de cocaína na forma de sal cloridrato.

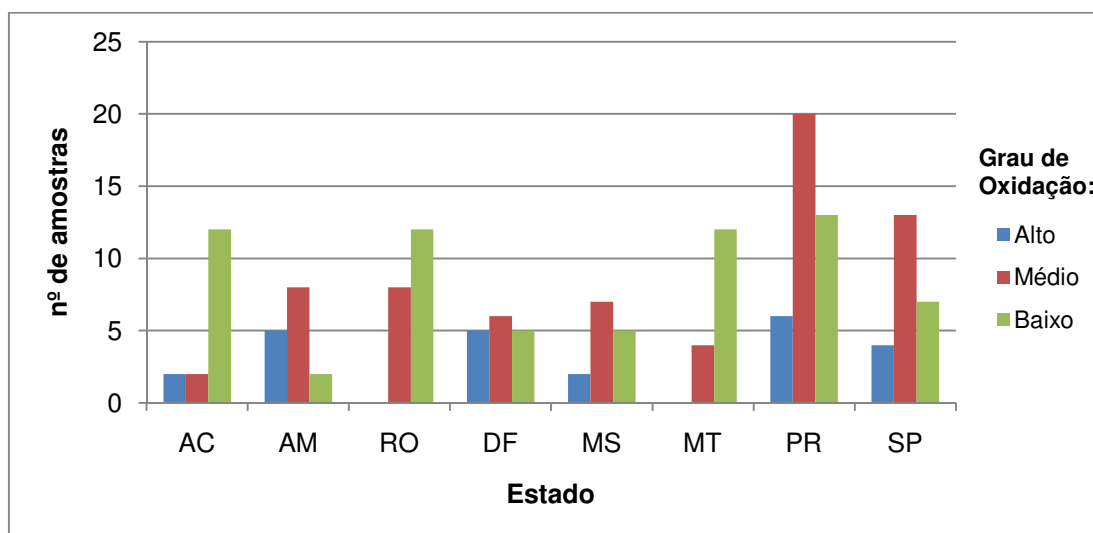


Figura 67 - Grau de oxidação: alto, médio, e baixo das amostras analisadas por estado.

4.7. Análises de alcaloides e adulterantes por CLAE/EM-EM (Triplo quadrupolo)

As Figuras 68 e 69 apresentam os cromatogramas das transições MRM dos alcaloides e adulterantes investigados. Com exceção da lidocaína, em todos os compostos foi possível monitorar duas transições MRM. Cabe ressaltar que, as transições inscritas nos cabeçalhos de cada cromatograma são exatamente as transições que apresentam a maior intensidade.

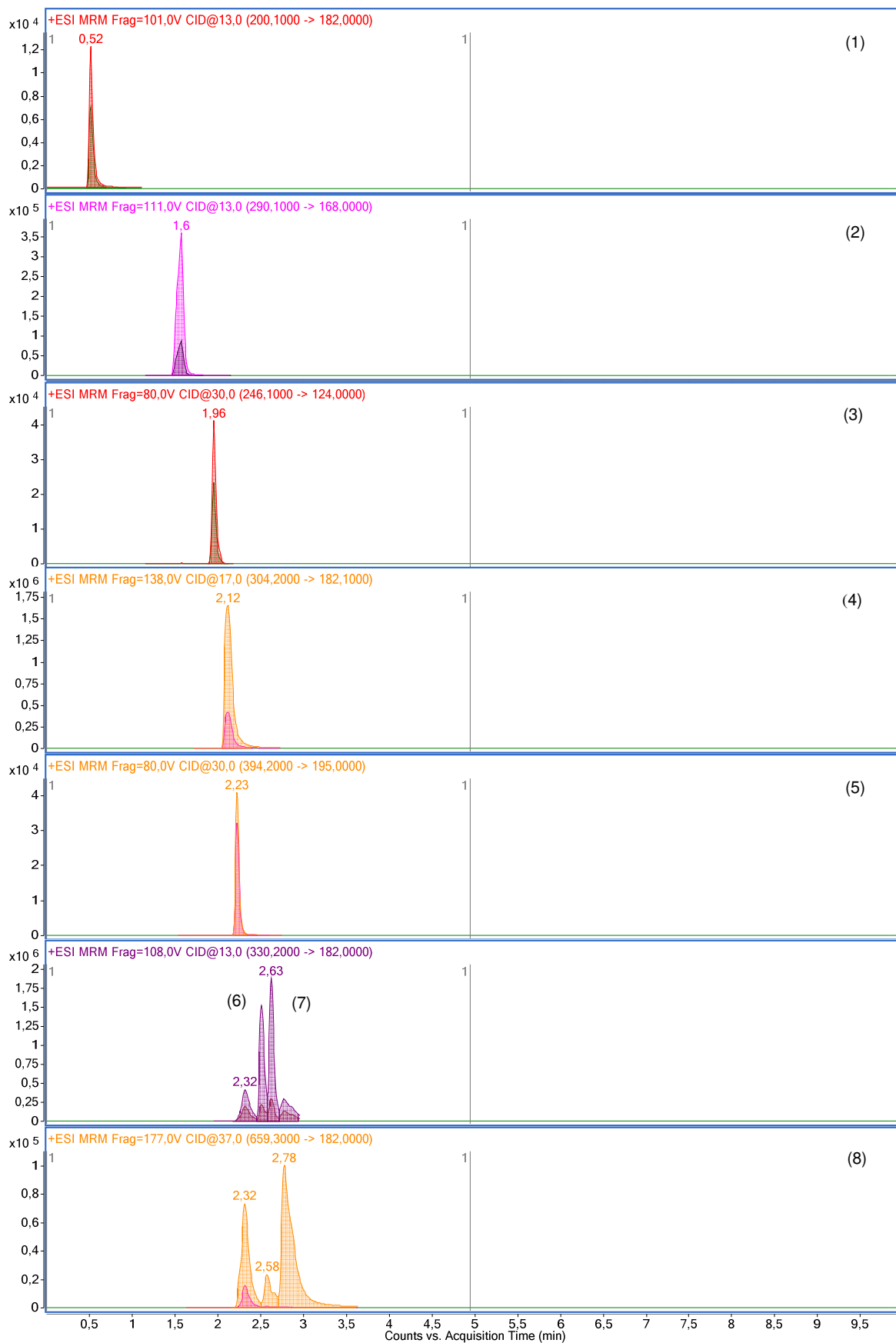


Figura 68 - Cromatogramas das duas transições MRM de cada um dos alcaloides investigados (padrões) em uma mesma injeção. Picos: mesma numeração da Tabela 14.

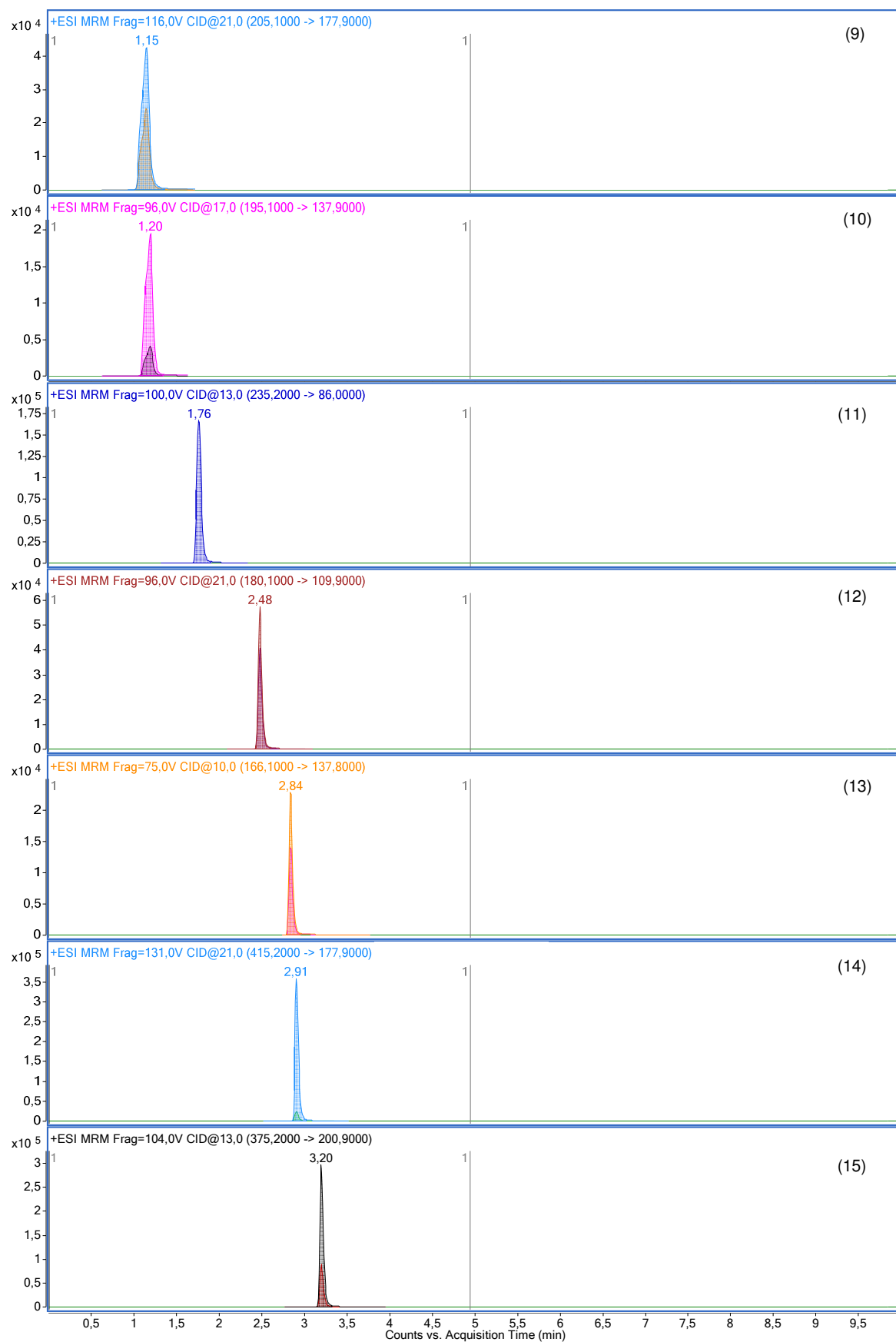


Figura 69 - Cromatogramas das duas transições MRM de cada um dos adulterantes investigados (padrões) em uma mesma injeção. Picos: mesma numeração da Tabela 14.

Nas Figuras de 70 a 72 são apresentados espectros de massas de fragmentação, em experimentos de EM/EM, dos íons de m/z 330,0, em diferentes tempos de retenção e do íon m/z 659,0, em diferentes energias de colisão.

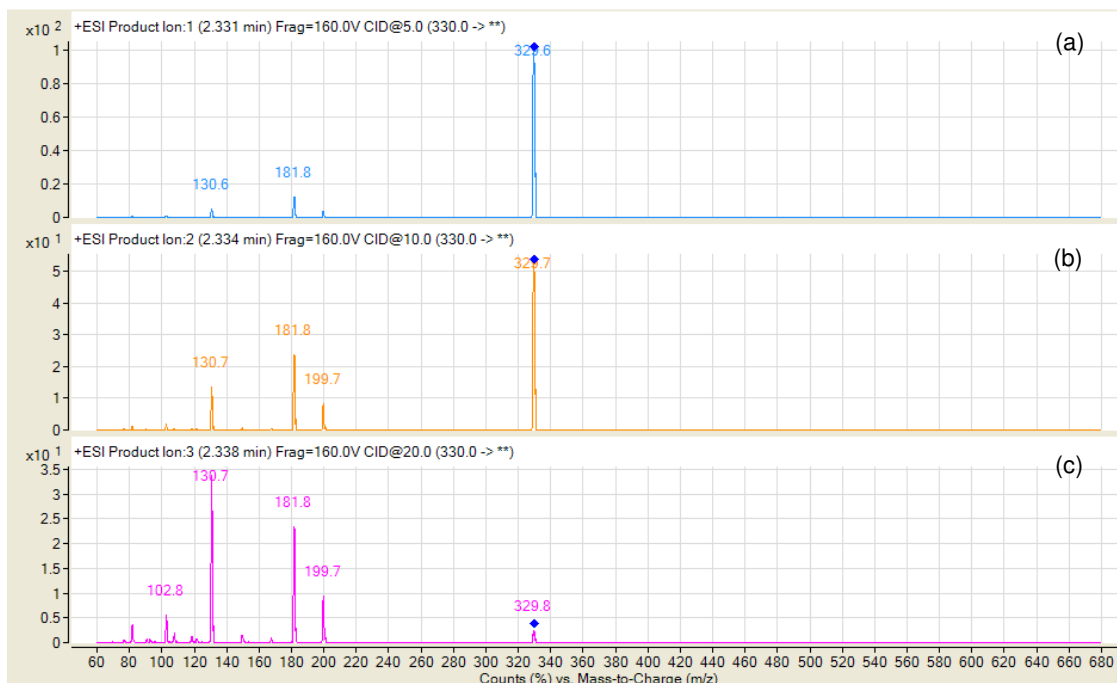


Figura 70 - Espectros de massas de fragmentação (EM/EM) do íon de m/z 330,0, no tempo de retenção da cis-cinamoilcocaína, em três energias de colisão (CID): (a) CID = 5, (b) CID = 10 e (c) CID = 20.

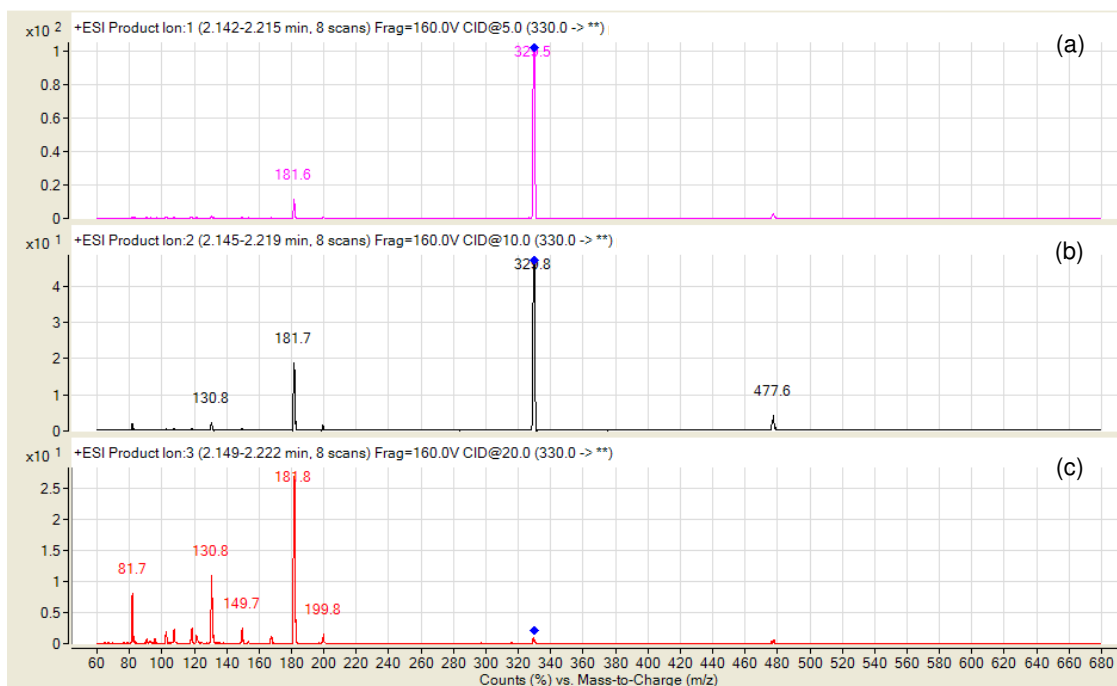


Figura 71 - Espectros de massas de fragmentação (EM/EM) do íon de m/z 330,0, no tempo de retenção de um dos isômeros da truxilina, em três energias de colisão (CID): (a) CID = 5, (b) CID = 10 e (c) CID = 20.

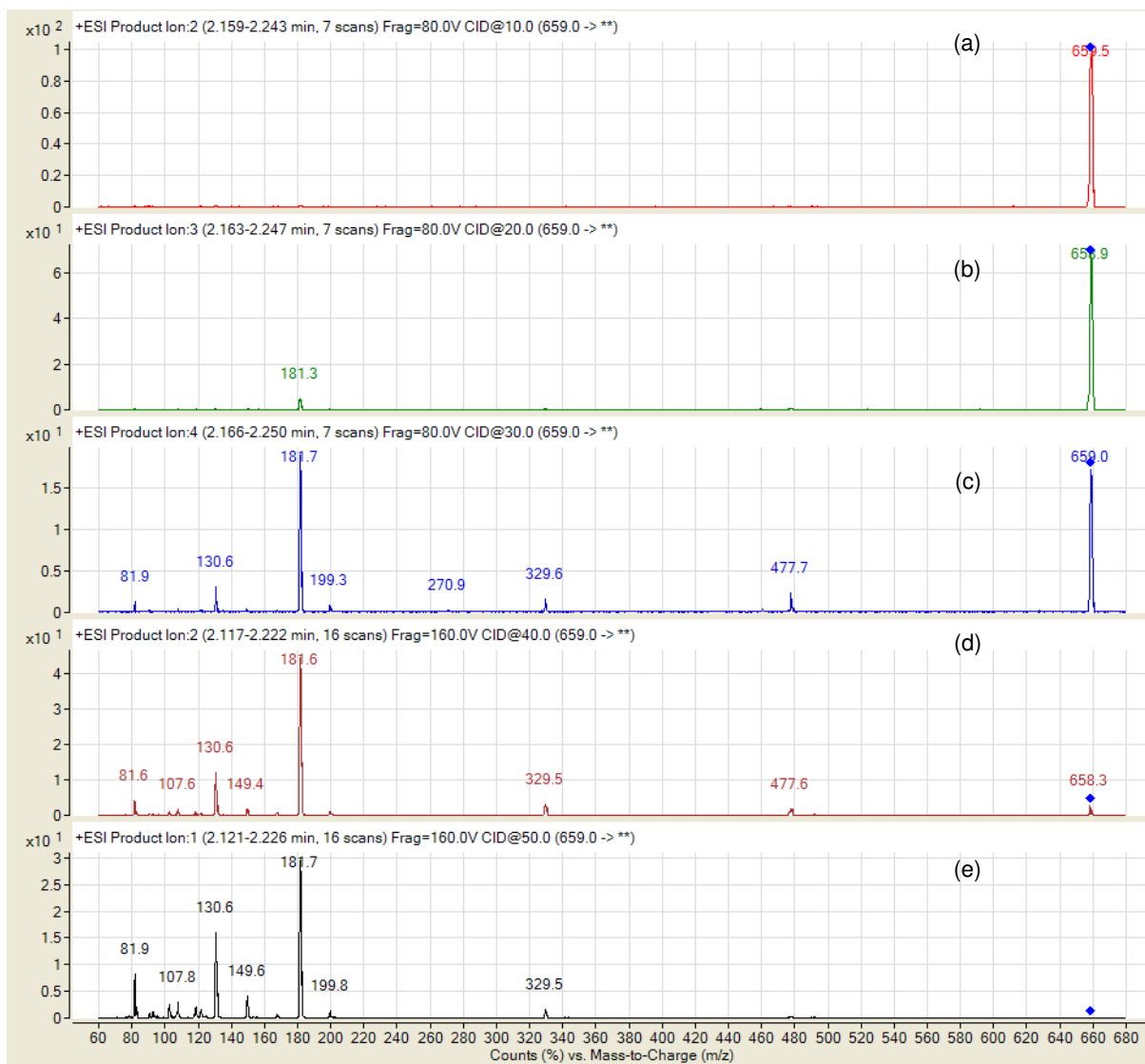


Figura 72 - Espectros de massas de fragmentação (EM/EM) do íon de m/z 659,0, no tempo de retenção de um dos isômeros da truxilina, em cinco energias de colisão (CID): (a) CID = 10, (b) CID = 20, (c) CID = 30, (d) CID = 40, e (e) CID = 50.

5. DISCUSSÃO

5.1. Introdução

Como já foi descrito anteriormente, este trabalho tem como principal objetivo apresentar uma nova metodologia analítica que possibilite a análise de truxilinas por CLAE/EM. Para complementar este desenvolvimento, optou-se por tentar, com a mesma metodologia, detectar os principais adulterantes e alcaloides encontrados em amostras de cocaína simultaneamente.

A relevância deste trabalho reside no fato de que, conforme mostrado na Introdução, ainda não existe no Brasil qualquer informação sobre os perfis de truxilinas em amostras de cocaína. Até mesmo as informações de teor de cocaína e grau de oxidação das amostras não são rotineiramente estabelecidas e publicadas no país. Dessa forma, é necessário que a Polícia Federal tenha a sua disposição um laboratório forense que seja capaz de desenvolver metodologias apropriadas e criteriosamente validadas para que os resultados emitidos sejam inequívocos e incontestáveis, contribuindo para o estabelecimento do perfil químico da cocaína apreendida no país, do qual este trabalho é parte integrante.

5.2. Desenvolvimento da metodologia proposta e análise de truxilinas

Os coeficientes de variação obtidos para as curvas de calibração dos isômeros das truxilinas por CG/DCE foram satisfatórios, pois apresentaram excelente linearidade dentro do intervalo dinâmico da curva analítica, com valores de coeficientes de regressão linear sempre superiores a 0,99 para todos os isômeros.

O método proposto de quantificação de truxilinas por CLAE/EM também apresentou excelente linearidade dentro do intervalo dinâmico da curva analítica, com valor do coeficiente de regressão linear superior a 0,999.

Foi proposto por Anastassiades *et al.*⁹¹, em 2003, uma metodologia inovadora para extração e preparo de amostras de resíduos de pesticidas denominado QuEChERS (do inglês, Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe), que foi traduzido para o português, segundo Prestes *et al.*⁹², como rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro. Com desenvolvimento do trabalho de 2003, os autores

buscavam um novo método de extração simultânea de múltiplos resíduos de pesticidas, para depois serem analisados por alguma análise cromatográfica.

Os parâmetros sugeridos por Anastassiades para um método rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro podem servir para avaliar qualquer nova metodologia analítica. Desta forma, esta abordagem será utilizada para comparar a nova metodologia de análise de truxilinas por CLAE/EM, desenvolvida nesta dissertação, com aquela publicada na literatura por CG/DCE²¹.

No que tange à rapidez, o método de CLAE/EM proposto é mais vantajoso que o de CG/DCE, pois é mais rápido tanto na preparação de amostras quanto no tempo de análise nos cromatógrafos. A preparação (redução e derivatização) de 20 amostras, pelo método CG/DCE, leva 6 horas (sem considerar a etapa de pesagem das amostras, que é comum aos dois métodos), resultando em um tempo estimado de 18 minutos por amostra. Somados aos 38 minutos de análise no CG/ECD, gasta-se quase 1 hora de análise por amostra. Já na nova metodologia proposta o tempo de preparação da amostra é bastante reduzido, já que, desconsiderando a pesagem, basta se adicionar 10 mL de solução de padrão interno e transferir para o vial. Com isso, a análise de CLAE/EM dura praticamente 23 minutos por amostra, que corresponde ao tempo de análise no cromatógrafo.

Uma possível melhoria para a metodologia de CLAE/EM proposta seria a utilização de um equipamento de UHPLC acoplado ao espectrômetro de massas, que poderia diminuir o tempo de análise para menos de 10 minutos, mantendo ou melhorando a resolução de picos do método proposto.

Quanto à facilidade, o método de CG/DCE é muito mais trabalhoso do que a nova metodologia proposta. Como já discutido, a preparação de amostras no método de CG/DCE envolve etapas de redução e derivatização, o que exige um laborioso procedimento de bancada, no qual as possibilidades de erros por parte do analista são significativamente ampliadas. Já no caso do método de CLAE/EM, por tratar-se de uma preparação direta, o trabalho do analista é simplificado.

Analisando somente a preparação de amostra, no quesito economia o novo método proposto é cerca de 7 vezes mais barato que o método de CG/ECD. Para tal estimativa foram contabilizados os custos dos reagentes mais caros, em que no caso do método por CG/DCE - HFBA, LiAlH₄, mu-truxinato, aldrin, isooctano e éter

etílico >99% - o custo é de cerca de R\$ 7,00 por amostra. No caso da preparação de amostras pelo método de CLAE/EM - metanol, seringa descartável e filtro para amostras (aproximadamente 20% das amostras precisaram ser filtradas) - o custo é de R\$ 1,00 por amostra^v.

Além disso, outro fato que torna o método de CG/ECD menos vantajoso economicamente é o custo por analista/hora. Enquanto no método de CLAE/EM o analista gasta menos de 10 minutos na preparação de 20 amostras, no método de CG/ECD ele gastaria 6 horas.

Os teores totais de truxilinas obtidos pela metodologia de CLAE/EM proposta foram notadamente diferentes dos obtidos pelo método de referência por CG/DCE. Os resultados podem ser observados nos Apêndices 1 e 2.

Sem dúvida, esta é a grande desvantagem apresentada pelo método proposto, o que inviabiliza sua utilização em uma rotina de análise de truxilinas, nesta fase de desenvolvimento em que se encontra.

Considerando efetividade como sendo a capacidade de um método de gerar resultados confiáveis e responder ao que ele se propõe de maneira eficiente, pode-se concluir que o método proposto não logrou o êxito esperado neste quesito.

Algumas hipóteses podem ser propostas para tentar explicar a diferença de teores obtida pelos dois métodos. Porém, antes de apresentá-las é importante discutir os resultados obtidos nas análises realizadas nas soluções do padrão de truxilinas RTI-DEA.

Nos experimentos planejados para a verificação da confiabilidade do método, diversos parâmetros foram avaliados durante o desenvolvimento proposto. A exatidão, a precisão, a linearidade e os parâmetros cromatográficos, como fator de retenção, fator de alargamento, fator de separação e resolução foram avaliados e os valores obtidos se mostraram adequados ao exigido para uma nova metodologia analítica. Portanto, as diferenças observadas nos teores de truxilinas na amostras analisadas por CLAE/EM não foram observadas nos padrões durante o desenvolvimento da metodologia.

^v Preços consultados no site www.aldrich.com em 29/10/2011.

Ao invés de se calcular o erro relativo para avaliar a exatidão de um método, pode-se efetuar o cálculo da recuperação, que é definido como sendo a razão percentual entre a concentração experimental e a concentração real (ou entre a concentração encontrada e a teórica). Segundo Épshtein⁹³, para a determinação quantitativa de impurezas de até 1%, a recuperação não pode ficar fora da faixa de 90 a 110%. No caso das avaliações de exatidão realizadas por CLAE/EM, na quantificação das truxilinas, esta faixa variou de 97,5 a 106,7%, incluindo as concentrações baixa, média e alta.

Já em relação à precisão inter e intra-ensaio, Épshtein⁹³ sugere coeficientes de variação menores ou iguais a 10% para impurezas variando entre 0,1 a 1%. No nosso caso, os coeficientes de variação obtidos para o método variaram entre 0,5 a 6,8%, incluindo todas as concentrações analisadas na curva de calibração e nos ensaios inter e intra-dia, conforme pode ser observado nas Tabelas 22 e 23.

Sugere-se que o fator de retenção (k') deve ser maior que 2, segundo o CDER/FDA⁸⁸, ou seja, que os picos estejam bem resolvidos em relação aos compostos não retidos na coluna. Neste sentido, os picos de todos os isômeros das truxilinas e o padrão interno (atropina) analisados pelo método proposto apresentaram valores maiores que 2.

De acordo com a referência 92, recomenda-se que o T_f (fator de alargamento) seja maior ou igual a 2, e, segundo Épshtein⁹³ valores fora da faixa de 0,75 e 2,5 devem ser evitados. Valores de T_f menores que 1 significam que o pico apresenta uma assimetria frontal, enquanto valores maiores que 1 implicam que o pico apresenta uma assimetria final (cauda). Na metodologia proposta, apenas o pico da truxilina 4 ficou fora desta faixa.

A resolução (R_s) entre um pico de interesse e o pico mais próximo (por exemplo, interferentes, produtos de degradação, padrões internos), para fins quantitativos, deve ser maior do que 1, segundo Lurie⁸⁷ ou 2, segundo o CDER/FDA⁸⁸. No método proposto, com exceção das truxilinas 5 e 6, foi possível obter uma resolução maior que 2 entre cada uma das truxilinas e o padrão interno escolhido. Considerando o critério mais tolerante, apenas a truxilina 6 não foi resolvida adequadamente.

Em virtude das considerações acima, ou seja, da dificuldade em se obter uma boa resolução e uma boa simetria (fator de alargamento) para os picos da truxilinas 4, 5 e 6, o que gera dificuldades em se conseguir uma integração reprodutiva no *software* de análise de dados, optou-se por integrar estes picos de forma conjunta, considerando-os como uma área única.

Após a discussão destes resultados, deve-se retornar à proposição de explicações para as diferenças observadas nas análises de truxilinas nas amostras pelas duas técnicas.

Em metodologias instrumentais as medições podem ser alteradas porque os reagentes, a matriz da amostra ou outros componentes alteram a sensibilidade do detector que mede o analito de interesse ou porque estes compostos afetam diretamente sua resposta, por meio da saturação do detector, por exemplo. Além disso, os efeitos de erros constantes (interferências) e erros proporcionais (efeito de matriz) podem ocorrer simultaneamente.

Como as diferenças de exatidão foram observadas apenas nas amostras analisadas e não nas análises das soluções padrões RTI-DEA, esse fato indica que os erros encontrados apontam para um efeito de matriz nas amostras.

É importante ressaltar que o padrão utilizado neste trabalho (RTI-DEA), não é um padrão analítico puro e sim um padrão de controle que apresenta a composição similar a uma amostra de cocaína, porém as amostras apreendidas apresentam composição muito variada, no que diz respeito aos teores de alcaloides e da presença de adulterantes e diluentes.

Segundo Kaufmann⁹⁴, muitas vezes, um espectrômetro de massas para CLAE não responde com a mesma intensidade se uma concentração idêntica de analito está presente em uma solução de padrão puro ou em uma amostra. Tal comportamento é geralmente relacionado à eficiência da ionização, que pode ser afetada por outros compostos presentes na matriz, mas não na solução padrão pura. No caso deste trabalho, isto se relaciona aos interferentes que não estão presentes no padrão RTI-DEA utilizado.

Dependendo dos analitos monitorados e dos compostos interferentes da matriz, pode ser observada supressão ou ganho de sinal. Tais efeitos têm sido relatados, em diversos graus, para todos os tipos de fontes de ionização.

Ainda segundo Kauffmann, acredita-se que a supressão do sinal na fonte *electrospray* pode ocorrer se íons de um analito não conseguem se desvencilhar das gotas de fase móvel, que estão secando, em virtude de alguns efeitos físicos e/ou químicos. Isto pode envolver a presença de alguns compostos da matriz, que podem ocupar predominantemente a superfície das gotículas, portanto dificultando a saída dos íons do analito.

A formação de adutos (por exemplo, sódio, amônio, cloreto), que são frequentemente observados no *electrospray*, afeta a quantificação por meio da produção de picos de massa adicionais às custas da intensidade dos íons moleculares $[M+H]^+$. A razão de $[M+H]^+$ e $[M+Na]^+$ pode ser afetada pela concentração de sódio de uma amostra particular, que dificultará a quantificação. Em alguns casos, os íons do analito podem até perder sua carga, como causado pela reação com um ligante presente na matriz que seja capaz de formar complexos.

Da forma similar, com o que ocorre com a formação de adutos, pode-se sugerir que a competição na formação de íons mono e duplamente carregados de truxilinas na fonte *electrospray* pode variar de amostra para amostra dependendo de sua composição química. E uma diminuição ou aumento da ionização do íon monocarregado, que foi o íon escolhido para quantificação, alteraria os teores de truxilinas obtidos. Se tal fenômeno também ocorre nas soluções de padrão utilizadas, ele poderia ser constante e não ser observado em virtude disso, já que o efeito de matriz do padrão seria o mesmo para todos os ensaios feitos com ele (construção da curva de calibração, controles, etc.).

A supressão do sinal ou a sua melhoria pode ser eficientemente reduzida por um bom processo de *clean up* (procedimentos antes da injeção no CLAE/EM) ou pela separação cromatográfica do analito dos compostos supressores da matriz. Uma fonte de ionização alternativa, como APCI pode ser testada se estas abordagens falharem. Em muitos casos, a supressão de sinal ou o seu aumento pode ser reduzida, mas não eliminada. Tais situações requerem o uso de técnicas de calibração adequadas, como a produção de soluções de calibração em matriz “branca” (livre do analito questionado) em vez de padrões em solvente puro.

Porém, a utilização de uma matriz única livre de truxilinas é praticamente impossível neste caso, pois como mostrado anteriormente, as amostras de cocaína

são matrizes de composição extremamente variada. Assim é impossível definir uma matriz “branca” universal, que possua todos os efeitos matriz, cada amostra pode ter seu próprio efeito matriz.

Para áreas em que a composição da matriz é relativamente constante, como em toxicologia forense, pode-se determinar a supressão, que pode ser definida como a razão da área do pico de um determinado analito na matriz e a área do mesmo pico, na mesma concentração, em solvente puro.

Como mostrado por Ferrer e Thurman⁹⁵ o analisador de massas tipo TOF é o que possui o menor intervalo dinâmico, o que não impossibilita sua utilização em métodos quantitativos.

Kaufmann⁹⁴ discute uma série de aspectos de um analisador de massas tipo TOF, e ressalta que funções de calibração, tanto do TOF quanto de um quadrupolo, podem ser perfeitamente lineares, enquanto algumas outras podem ser melhores se tratadas com uma equação quadrática. Além disso, o desvio da linearidade não é um problema com os *softwares* modernos.

Entretanto, problemas com a linearidade não afetaram a curva de calibração das truxilinas, mas podem ser interessantes para tentar enquadrar os dois pontos mais concentrados das curvas de calibração da maioria dos alcaloides, que ficaram fora da faixa de linearidade.

A linearidade das medidas de TOF é limitada por causa da maneira como os íons são detectados. A detecção exata do tempo de voo de um íon é muito desafiadora do ponto de vista da engenharia do equipamento. Os tubos de voo relativamente curtos dos instrumentos disponíveis no mercado exigem medições muito precisas e de alta velocidade. A cadeia de gravação a partir do detector para o amplificador e o armazenamento de dados tem de ser extremamente rápida.

Mesmo um grupo de íons idênticos chegará ao detector como uma banda minimamente espalhada, causada por alguma variação da energia de transição inicial e por imperfeições durante a aceleração dos íons. Um problema quantitativo e qualitativo pode ser observado se dois íons chegarem dentro de um intervalo de tempo mais curto do que aquele em que o detector pode se “recuperar” a partir do choque do primeiro íon. O detector só vai registrar o tempo do primeiro íon. Com isso, o segundo íon não será detectado nem o tempo de voo conhecido.

Consequentemente, o tempo médio de voo é tendencioso, já que apenas os primeiros íons a atingir o detector estão disponíveis para o cálculo da média de tempo de voo e as respectivas massas exatas também resultarão em medições erradas. É exatamente este tipo de fenômeno que ocorre na saturação do TOF.

Uma outra alternativa para a solução deste problema seria implementar um método de adição-padrão, que consiste na adição de quantidades exatas e conhecida dos analitos em estudo às soluções de amostras a fim de preparar os pontos da curva analítica. Este método vai requerer maior quantidade de padrão e, normalmente, maior tempo de execução. Por outro lado, todas as amostras preparadas estarão submetidas às mesmas condições de matriz, minimizando ao máximo interferências desta natureza na análise.

Além disso, pode-se tentar trabalhar com amostras mais diluídas, para evitar a saturação do detector, as desvantagens seriam o maior consumo de solventes ou tempo, em se tratando de diluições sucessivas, e seria necessário reduzir o limite de detecção das truxilinas.

Pode-se observar na curva de calibração da tropacocaína (Figura 49), o que aparentemente é um efeito claro de saturação do TOF ou supressão da ionização na fonte *electrospray* ou de ambos. Até o quinto ponto da curva, a tropacocaína apresenta um comportamento linear. Porém a partir do sexto ponto, ela perde completamente este comportamento. O problema é que a tropacocaína tem um tempo de retenção muito próximo ao da cocaína. A partir do momento em que a tropacocaína aumenta de concentração, a cocaína também aumenta (o padrão RTI-DEA tem 83,4% de cocaína) e estes analitos passam a ter uma coeluição parcial, principalmente em virtude do alargamento do pico da cocaína. É a partir deste ponto que o comportamento da tropacocaína se torna problemático. As alternativas são a melhoria da separação cromatográfica dos analitos ou retirada da cocaína em uma etapa pré CLAE/EM.

As limitações produzidas por concentrações fora do intervalo dinâmico do TOF poderiam ser resolvidas com a utilização de funções de calibração não-lineares. Entretanto, o problema principal está associado com os deslocamentos nas medidas de massa exata que são observadas quando o detector atinge essa saturação.

Outra diferença fundamental entre as técnicas proposta e de referência é que na preparação das amostras no método de análise de truxilinas por CG/DCE a cocaína é eliminada durante a etapa de redução. Seus grupos ésteres são reduzidos a alcoóis e são extraídos pela fase aquosa. Isto minimiza os possíveis efeitos de matriz (normalmente a cocaína é o principal componente das amostras) que poderiam influenciar na separação e detecção dos analitos. No método proposto, como já discutido, não existe etapa prévia de limpeza da amostra, para eliminar a cocaína e outros possíveis interferentes.

A Orientação publicada pelo Inmetro⁸⁹ apresenta robustez como tradução de “robustness”, parâmetro bastante comum na validação de métodos analíticos, com a seguinte definição: “A robustez de um método de ensaio mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas variações. Um método diz-se robusto se revelar praticamente insensível a pequenas variações que possam ocorrer quando esse está sendo executado.” Esta definição é a mesma apresentada no guia⁹³ do Center of Drug Evaluation and Research (CDER) – Food and Drug Administration (FDA) para “robustness”.

Por isso, como definição de “rugged”, apresentado por Anastassiades⁹¹, será utilizado o conceito de “ruggedness”, que é mais amplo e engloba a precisão intermediária, a reprodutibilidade e o de “robustness” de um método. Portanto, infere-se que a robustez de um método analítico é o grau de reprodutibilidade dos resultados obtidos pelas análises das mesmas amostras sob uma variedade de condições, tais como diferentes laboratórios, diferentes analistas, em condições ambientais e operacionais, que podem variar, mas que se mantenham dentro dos parâmetros estabelecidos pelo método.

Interpretando desta maneira, a “ruggedness” é uma das últimas etapas para a validação de um método, e, portanto não foi executada neste trabalho em virtude das diferenças obtidas nas análises de truxilinas totais pelos dois métodos. Não é apropriado prosseguir com o processo de validação, antes de se descobrirem as causas deste problema.

Finalmente, comparando a segurança dos métodos proposto e de referência, mais uma vez as etapas de redução e derivatização são determinantes nesta comparação, pois os reagentes utilizados são extremamente tóxicos. Com especial

destaque para o aldrin, que é um composto organoclorado com ação agrotóxica, proibido no país desde 1985, dado sua alta toxicidade para saúde humana e periculosidade para o meio ambiente. Além disso, o HFBA e o LiAlH_4 também são tóxicos para a saúde humana, e podem causar severas queimaduras na pele. Além destes reagentes, no método de referência são manipulados solventes inflamáveis como éter etílico, clorofórmio e isooctano e solução de ácido sulfúrico. Cabe ressaltar, ainda, que o LiAlH_4 em contato com água pode ser extremamente perigoso, em razão da possibilidade de explosão. No método proposto, por outro lado, os fatores de risco à segurança são significativamente menores, pois existe somente a manipulação de metanol e atropina, como reagentes tóxicos.

Boa parte da discussão acima menciona a utilização do padrão RTI-DEA como única alternativa para a quantificação de truxilinas, sendo que ele funcionou satisfatoriamente nas análises de truxilinas por CG/ECD. No mercado, não existem padrões analíticos disponíveis de nenhum dos isômeros das truxilinas. Neste sentido, o trabalho desenvolvido nesta dissertação só foi possível em virtude de uma doação desse padrão de cocaína RTI-DEA, que contém teores especificados dos isômeros das truxilinas, pelo *Special Testing & Research Laboratory* do *Drug Enforcement Administration* (DEA). Porém, este padrão se trata de uma mistura de diversos alcaloides. A falta de um padrão analítico das truxilinas, ou de ao menos algum de seus isômeros, impossibilitou uma série de testes e otimizações no espectrômetro de massas, como por exemplo testes de supressão de íons das truxilinas com os alcaloides que coeluem parcialmente com as mesmas, como é o caso da trans-cinamoilcocaína. Seria possível estabelecer, com isso, o intervalo dinâmico mais confiável das truxilinas neste método, sem a presença de interferentes.

Uma alternativa viável a esta limitação seria purificar as truxilinas a partir de amostras de cocaína, tentando isolá-las para servir de padrão, como foi realizado por Lurie et al^{20,50}. Contudo, além de fugir do escopo proposto neste trabalho, o tempo não seria suficiente para a implementação deste método de purificação.

Os limites de detecção obtidos por Moore et al²¹ na metodologia de CG/ECD foram de 4 a 8 vezes mais baixos que os obtidos durante os ensaios realizados, com a mesma metodologia, no desenvolvimento dessa dissertação. É provável que essa

distinção seja explicada pelas diferenças nos instrumentos utilizados. Por exemplo, durante os exames, foi utilizado um injetor tipo PTV, enquanto no artigo de Moore e colaboradores utilizou-se um injetor tradicional tipo split/splitless. Outras hipóteses podem ser levantadas como diferentes modelos do detector ECD.

Comparando-se os limites de detecção e quantificação obtidos experimentalmente, pelo método de CG/DCE, nas condições e equipamento testados, e na nova metodologia proposta por CLAE/EM, o limite de detecção da técnica de CG/DCE é cerca de 12 a 20 vezes menor e o de quantificação cerca de 8 vezes menor do que por CLAE/EM.

Como já foi discutido, a determinação de truxilinas por CG/DCE envolve a derivatização prévia com anidrido heptafluorobutírico (HFBA), os derivados formados apresentam dois grupos heptafluorobutíricos (HFB) o que gera uma grande resposta no detector por captura de elétrons, que é um detector muito sensível para compostos halogenados.

Além disso, parte dessa diferença pode ser explicada pela própria resposta das truxilinas na técnica de CLAE/EM. Para os demais alcaloides tropânicos de coca, que têm estruturas semelhantes às das truxilinas, foram obtidos limites de detecção bem menores que os das mesmas, entre 2,6 e 8,0 µg/L, de 60 a 80 vezes menores, no mesmo equipamento e método. Nos ensaios qualitativos por CLAE/EM já era perceptível esta diferença nos limites de detecção dos demais alcaloides em relação às truxilinas.

É provável que as truxilinas sofram fragmentação e/ou não ionizem tão bem na fonte de ionização *electrospray*. Elas formam mais espécies do íon duplamente carregado (m/z 330,1700) em detrimento do íon mono carregado (659,3327), que foi o íon utilizado na determinação do LD e LQ, por se tratar do íon exclusivamente formado na ionização das truxilinas. Parte da diferença nas abundâncias dos íons mono e duplamente carregados foi minimizada pelo aumento da energia de fragmentação no equipamento, que permitiu um aumento no sinal do íon mono carregado em relação ao íon duplamente carregado. Infelizmente, pela indisponibilidade de padrões puros de truxilinas, o comportamento das truxilinas na fonte *electrospray* não pode ser completamente elucidado.

Apesar de os limites de detecção e quantificação obtidos para as truxilinas por CLAE/EM serem mais altos que os obtidos por CG/ECD, eles são suficientes para analisar os teores de truxilinas normalmente encontrados em amostras de cocaína.

No início do desenvolvimento desta metodologia objetivou-se estabelecer uma técnica para detecção e quantificação de truxilinas, porém com os ensaios qualitativos extremamente promissores buscou-se estabelecer condições experimentais e instrumentais que permitissem a detecção simultânea de todos os analitos. Por exemplo, a voltagem de fragmentação do CLAE/EM que gera o maior sinal para do íon m/z 659,3327 das truxilinas é de cerca de 250 V, porém essa energia é muito alta para a maioria dos outros analitos investigados, que se fragmentam acentuadamente, diminuindo radicalmente seus sinais, por isso optou-se por uma energia menos alta de 200 V, que também apresenta um bom sinal do íon m/z 659,3327.

Como perspectiva futura, seria interessante testar faixas de voltagem de fragmentação diferentes durante a análise, objetivando selecionar as melhores voltagens de fragmentação para cada analito, dependendo de seu tempo de retenção. A ressalva estaria na velocidade com que o equipamento estabiliza o sinal a cada nova voltagem selecionada. Talvez o uso de faixas fixas de alguns minutos para grupos de analitos ao invés de estabelecer faixas para cada analito fosse a alternativa mais indicada.

É importante ressaltar que um grande esforço foi despendido na otimização das condições cromatográficas durante o desenvolvimento do método proposto. O objetivo foi resolver da melhor forma possível os dez isômeros das truxilinas. Grande parte do trabalho experimental desta dissertação foi gasto neste desenvolvimento.

Dezenas de condições foram testadas, combinando-se os parâmetros descritos no subitem 3.2.2.c, incluindo testes com quatro colunas cromatográficas diferentes. As colunas que possuem partículas de 3,5 μm apresentaram resolução sensivelmente melhor que as colunas de 5 μm .

Além disso, a troca do eluente orgânico acetonitrila/0,1% ácido fórmico por metanol também gerou uma significativa melhora na resolução. O metanol tem sido uma opção eficaz para substituir a acetonitrila nos últimos anos, quando ocorreu um

desabastecimento de acetonitrila no mercado, gerando um aumento em seus preços.

Só foi possível identificar os nove isômeros mostrados após a utilização das colunas com partículas de 3,5 μm e metanol como eluente orgânico. Acredita-se que a décima truxilina não observada nos cromatogramas esteja coeluído com algum dos picos dos demais isômeros das truxilinas. Como todos os isômeros possuem o íon molecular com a mesma massa exata torna-se impossível, com o detector de massas utilizado, identificar em que ponto ocorre esta coeluição.

Mesmo nos testes de fragmentação das truxilinas por CLAE/EM-EM não foi possível observar diferenças entre os espectros de massas (EM-EM) das truxilinas. Os espectros de massas dos diferentes picos cromatográficos do íon m/z 659,00 apresentaram os mesmos íons produto, com intensidades similares.

Nas medidas de massa molecular exata dos íons $[M+H]^+$, por CLAE/EM, os erros obtidos foram menores que 2,5 ppm. As medidas foram realizadas em uma solução-padrão, com todos os analitos. Os erros aceitáveis para confirmação de massa molecular devem ser menores do que 5 ppm⁷⁷.

Analisando os espectros de massas dos íons de m/z 330,1700 ($[M+2H]^{2+}$) e 659,3327 ($[M+H]^+$), no equipamento de CLAE/TOF-EM, com ionização *electrospray*, observou-se que o íon de 330,1700, apesar de ter o mesmo m/z do íon monocarregado das cinamoilcoínas, também é formado como íon duplamente carregado das truxilinas. Este fato é comprovado primeiramente pela presença do íon de m/z 330,6716 em sua distribuição isotópica. Íons duplamente carregados apresentam distribuição isotópica diferente (Figura 38) dos monocarregados. Além disso, a sobreposição praticamente perfeita dos cromatogramas reconstruídos dos íons de m/z 330,6716 e 659,3327 das truxilinas.

Observou-se que o cromatograma do íon de m/z 330,6716 apresenta pequena contribuição do íon monocarregado das cinamoilcoínas. No tempo de retenção da *cis*-cinamoilcoína, aparece um pequeno pico no cromatograma reconstruído do íon 330,6716, não observado no cromatograma do íon de m/z 659,3327, e no tempo de retenção da *trans*-cinamoilcoína, o pico da truxilina 6 é proporcionalmente maior no cromatograma do íon de m/z 330,6716 que no

cromatograma do íon de m/z 659,3327. Em virtude destes resultados, o íon de m/z 659,3327 foi o íon escolhido para quantificação das truxilinas.

Os experimentos de CLAE/EM-EM também confirmaram a formação de um íon duplamente carregado das truxilinas, por meio da ionização *electrospray*. Nos experimentos de EM/EM de fragmentação de íons precursores, o íon de m/z 330,0 foi fragmentado. Nos tempos de retenção das cinamoilcocaínas, os espectros de massas de EM/EM obtidos não apresentaram nenhum íon produto maior que 330,0. Já nos tempos de retenção da truxilinas, os espectros de massas de EM/EM do mesmo íon apresentaram o íon de m/z 478, que é um dos íons produto da fragmentação do íon monocarregado das truxilinas (m/z 659,0).

Outro fato importante a se destacar é que os espectros de massas de fragmentação EM/EM dos íons de m/z 330,0, nos tempos de retenção das cinamoilcocaínas e das truxilinas, e do íon de m/z 659,0 das truxilinas, apresentam os mesmos íons produto. Isto indica claramente que são compostos com estruturas bastante similares, o que é exatamente o caso, já que as truxilinas são formadas pela fotodimerização das cinamoilcocaínas.

Moore *et al.*²¹ descreveram a detecção de produtos de hidrólise das truxilinas por CLAE/EM-EM em amostras de cocaína. Tais produtos também foram observados neste estudo por CLAE/EM e CLAE/EM-EM, principalmente os produtos 1 e 3, conforme numeração da Figura 40. Além das massas exatas obtidas por CLAE/EM serem as esperadas (Tabela 19), a confirmação de que estes íons se referem a estes produtos foi feita pela fragmentação EM-EM destes íons. Seus espectros de massas de fragmentação apresentam os mesmos íons produtos obtidos na fragmentação dos íons das truxilinas, sugerindo estruturas semelhantes.

O íon com m/z 478,2, além de ser a massa do produto 3 de hidrólise das truxilinas, também é um dos íons produtos da fragmentação EM-EM dos íons das truxilinas (Figura 71). Este resultado somado ao fato dos cromatogramas reconstruídos dos íons de m/z 478,2 e 659,3 terem apresentando alguns picos coeluinto, sugere que parte dos íons de m/z 478,2 pode ser resultado da fragmentação dos íons das truxilinas ainda na fonte de ionização *electrospray*. Porém, tal fato só poderia ser confirmado com a análise de um padrão de truxilinas puro por CLAE/EM ou CLAE/EM-EM.

Os teores totais de truxilinas foram estabelecidos pela técnica de CG/ECD, já que os teores obtidos por CLAE/EM não foram confiáveis, conforme discussão anterior.

Os resultados obtidos para origem geográfica foram coerentes, para a maioria das amostras, com os estados com os quais estes países fazem fronteira e com as informações de inteligência/investigação policial fornecidas pela CGPRE/DCOR/DPF (Coordenação-Geral de Polícia de Prevenção e Repressão a Entorpecentes/Diretoria de Combate ao Crime Organizado).

Segundo as análises de truxilinas totais, nenhuma amostra de origem colombiana foi apreendida em São Paulo e Paraná, e somente uma foi apreendida no Centro-Oeste. A maioria das amostras de origem colombiana foi apreendida no estado do Amazonas, estado que faz fronteira com a Colômbia.

A maioria das amostras apreendidas no Paraná (85%), em São Paulo (79%), Distrito Federal (75%) e Mato Grosso (56%) são de origem boliviana, o que está em conformidade com as informações investigativas da CGPRE/DCOR/DPF.

Todas as amostras apreendidas no estado do Acre são de origem peruana (80%) ou boliviana (20%), o que é perfeitamente coerente, uma vez que são países com os quais o Acre possui fronteira.

Cabe ressaltar que, apesar dos resultados promissores, não é possível estabelecer inequivocamente a origem geográfica de amostras de cocaína somente com a análise de truxilinas. Como discutido anteriormente, é necessário um conjunto de técnicas instrumentais para esta conclusão.

Moore *et al.*²¹ estabeleceram uma faixa de 0,22 a 12,3% de variação no teor total de truxilinas, nas amostras investigadas por eles, em 1996. Esta faixa é muito próxima à obtida neste trabalho, que foi de 0,28 a 11,9%.

Pode-se evidenciar mais uma característica interessante: quase todas as amostras na forma de sal cloridrato são de origem boliviana (95%) enquanto todas as amostras supostamente oriundas da Colômbia e a grande parte das oriundas do Peru estão na forma de base livre (94%). Isto revela um padrão de produção/consumo que se torna uma característica importante dentro dos critérios de identificação de origem geográfica de apreensão.

Aparentemente as proporções entre os teores de cada um dos isômeros das truxilinas nas amostras analisadas é visualmente muito similar à observada nas análises de Moore *et al.*²¹, sendo os isômeros alfa e beta os mais abundantes.

Uma futura análise destes resultados por quimiometria poderá estabelecer correlações mais efetivas, comparando-se os teores de cada um dos isômeros, tentando agrupá-los por semelhanças entre as proporções relativas de cada isômero.

Como não era objetivo deste trabalho quantificar os outros alcaloides minoritários, o método proposto com enfoque para estes analitos não foi validado e nem comparado com outra técnica de referência. Portanto os dados de quantificação obtidos para estes alcaloides simultaneamente ao das truxilinas, a partir de suas curvas de calibração, não serão incluídos nesta dissertação.

O objetivo principal foi o desenvolvimento de um método qualitativo, simultâneo à quantificação das truxilinas. Porém, com as determinações do intervalo dinâmico e do limite de detecção destes alcaloides nas condições do método proposto.

No método de quantificação por CLAE/EM obteve-se a faixa de linearidade de aproximadamente duas ordens de magnitude e foi obtido um coeficiente de regressão linear maior que 0,99 para todos os alcaloides, exceto para a *cis*-cinamoilcocaína.

A quantificação das *cis*-cinamoilcocaínas provavelmente não será mantida no método, em etapas futuras, pois, por serem alcaloides com concentrações relativamente altas, elas estariam fora do intervalo dinâmico de um analisador de massas tipo TOF.

Não foi possível planejar a construção das curvas de calibração, de acordo com os valores tipicamente esperados para cada alcaloide na literatura. Como já discutido para as truxilinas, o padrão disponível para a construção das curvas era o padrão RTI-DEA, que possui concentrações variadas de cada um dos analitos. Se for necessário testar um ponto mais concentrado de um dos analitos todos os outros aumentam de concentração também, principalmente a cocaína, que é o componente majoritário deste padrão.

5.3. Determinação do teor de cocaína nas amostras

Alguns autores³¹ sugeriram relações entre o teor de cocaína e o tamanho da apreensão de cocaína em países europeus. Barrio³⁰ faz a separação entre “cocaína de rua” (amostras com menos de 5 g e destinadas ao usuário) e “grandes lotes” ou lotes em condições de tráfico (grandes quantidades para tráfico internacional e interestadual). Observa-se que, de forma geral, na Europa a pureza da cocaína aumenta com o aumento do volume da apreensão. Porém, Almeida²⁵ não conseguiu estabelecer essa relação em amostras brasileiras.

Essa relação é intuitiva, já que durante a cadeia de distribuição da cocaína a tendência é que a amostra tenha tido sua massa aumentada com substâncias (adulterantes e diluentes) mais baratas para aumentar a lucratividade dos traficantes. Desta forma como as pequenas apreensões são efetuadas com usuários, a tendência é que este material já esteja bastante diluído ou adulterado (comumente chamado de “batizado”) com baixo teor de cocaína ao contrário das grandes apreensões.

As amostras selecionadas para análise neste trabalho são oriundas de apreensões acima de 5 kg, isto é buscou-se eliminar amostras de baixa pureza, muito diluídas ou adulteradas, já que nestes casos os teores de alcaloides também estão reduzidos. Amostras não “batizadas” mantêm a composição constante desde a sua produção, facilitando a determinação da sua origem geográfica.

Apesar das poucas publicações com este tipo de informação, principalmente no Brasil, pode-se comparar com o trabalho de Almeida, em que o teor médio de cocaína obtido foi de 28,8%, bem inferior ao o teor médio das amostras analisadas nesse trabalho, que foi de 70,5% (teor médio de 62,4% a 73,3% por estado).

A maioria das amostras apresentou teores entre 70 e 80% de cocaína. Acredita-se, portanto, que a seleção de amostras maiores que 5 kg para análise tenha sido efetiva na obtenção de amostras menos adulteradas ou diluídas.

Não foi possível estabelecer nenhuma diferenciação evidente entre os teores de cocaína nas amostras apreendidas em diferentes estados ou por região. Os estados apresentaram faixas similares de teores médios e máximos. Da mesma forma, não foi possível constatar nenhuma relação entre forma de apresentação e

teor de cocaína. As amostras de cocaínas na forma de base apresentaram teor médio de 69,8% e na forma de sal cloridrato de 71,5%.

5.4. Determinação da presença de adulterantes nas amostras

Em relação à presença de adulterantes nas amostras analisadas, pode-se observar que 46% do total de amostras estavam adulteradas, sendo que em São Paulo esta porcentagem ficou em 33% e nas demais regiões variou de 56 a 61%. Almeida²⁵ observou, em 2003, em amostras apreendidas no país, um índice de adulteração de 54%, pouco superior ao detectado neste trabalho, talvez pelo fato de as amostras selecionadas e analisadas serem de grandes apreensões.

O principal adulterante encontrado (35%) em todos os estados foi a fenacetina, como também foi observado por Brunt³⁵, na Holanda em 2009.

A mesma característica também foi ressaltada por Almeida²⁵, 2003, em amostras do estado do Amazonas, em que a fenacetina era o principal fármaco adulterante, presente em 40,7% das amostras deste estado. Já nas amostras do Rio Grande do Sul o principal adulterante encontrado foi a lidocaína, que neste trabalho não foi detectada nas regiões Norte e Centro-Oeste e estava presente em apenas 4% das amostras dos estados do Paraná e São Paulo.

Esta tendência de queda na presença de lidocaína em amostras de cocaína também foi observada por Barrio³⁰, na Espanha.

Outra característica importante observada nas amostras analisadas foi a presença de levamisol em 11% delas. Em nenhuma publicação anterior sobre amostras apreendidas no país havia sido descrita a detecção deste fármaco, somente em publicações sobre apreensões de cocaína em outros países, como foi discutido na Introdução.

Não foi detectado nenhum fármaco diferente dos comumente descritos em publicações anteriores, exceto o paracetamol, que foi detectado em apenas uma amostra, que aparentemente se trata de um caso isolado.

Trabalhos futuros com maior quantidade de amostras e quantificação dos adulterantes deverão ser executados para confirmar estas tendências de adulteração com fármacos.

5.5. Determinação do grau de oxidação das amostras

Analisando os teores de cis e trans-cinamoilcocaína e relacionando os mesmos com o grau de oxidação sofrido pelas amostras, conforme classificação mostrada anteriormente pode-se estabelecer algumas características importantes.

Apenas 15% das amostras passaram por processos muito oxidativos. Porém, quando as amostras são separadas por forma de apresentação, observa-se que as amostras de cloridrato de cocaína tendem a ser mais oxidadas que as amostras de cocaína na forma de base, que podem não ter passado por nenhum processo oxidativo, como foi discutido nos processos de refino apresentados na Introdução.

Ainda em relação ao grau de oxidação, não foi observada nenhuma tendência regional clara, já que no Acre, Rondônia e Mato Grosso a maioria das amostras era baixamente oxidada, enquanto as amostras do Amazonas, Distrito Federal, Paraná e São Paulo sofreram majoritariamente uma oxidação mediana.

5.6. Análises por CLAE/EM-EM

Como o equipamento de CLAE/EM-EM (Triplo quadrupolo) utilizado neste trabalho foi uma versão “demo” em nosso laboratório, a metodologia proposta foi desenvolvida somente no equipamento de CLAE/EM. O método de CLAE/EM-EM testado apresentou bons resultados na detecção de todos os compostos analisados objetos dos estudos. A principal vantagem da técnica de CLAE/EM-EM reside no fato do tempo de análise ser de apenas 9 minutos, enquanto que no método de CLAE/EM testado, o tempo de análise foi de 23 min. Tal fato se deve às diferenças existentes entre os equipamentos de CLAE utilizados, pois o equipamento de CLAE/EM-EM estava acoplado a um UHPLC, que permite o uso de colunas com dimensões menores e com partículas de 1,8 μm , que conseguem manter a resolução dos picos em tempos de análise significativamente menores.

Além disso, como discutido anteriormente com o equipamento de CLAE/EM-EM foi possível realizar experimentos de fragmentação EM/EM dos íons das truxilinas.

6. CONCLUSÕES

Os resultados das análises de 160 amostras de cocaína apreendidas em 8 estados brasileiros foram apresentados. Determinaram-se o teor de truxilinas, de cocaína, e de cis e trans-cinamoilcocaína, além da presença de adulterantes.

No método de quantificação de truxilinas por CG/DCE os teores obtidos variaram entre 0,28-11,89% (m/m relativo à cocaína), faixa muito próxima à estabelecida em publicações anteriores.

No método de quantificação de truxilinas por CLAE/EM obteve-se um coeficiente de regressão linear maior que 0,999 e uma excelente separação cromatográfica, que resolveu nove dos dez isômeros das truxilinas.

Os resultados obtidos por experimentos de CLAE/EM-EM foram comparáveis aos resultados obtidos por CLAE/EM e demonstrou-se que os experimentos de MRM são uma abordagem analítica promissora para a identificação e quantificação rotineiras de alcaloides de cocaína e adulterantes.

Foi possível comprovar a formação do íon duplamente carregado na ionização por *electrospray* das truxilinas, bem como estabelecer o seu perfil de fragmentação em equipamentos do tipo EM/EM, resultados que ainda não foram publicados na literatura.

Em virtude das vantagens (rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro) e potencialidades do método de CLAE/EM proposto, esforços continuarão sendo dedicados para a correção dos erros encontrados, para que enfim seja possível validá-lo e utilizá-lo como uma metodologia na rotina de análises para o estabelecimento do perfil químico de amostras de cocaína apreendidas pela Polícia Federal.

Os experimentos futuros que devem ser testados para superar os problemas encontrados com a metodologia proposta são: método de adição-padrão, inserção de uma etapa de pré-tratamento, melhorias na separação cromatográfica, e novos parâmetros na detecção por TOF.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ Inaba, D. S.; Cohen, W. E.; *Upper, Downers and All Arounders: Physical and Mental Effects of Psychoactive Drugs*, 6th ed.; CNS Productions: Medford, **2007**.
- ² United Nations Office on Drugs and Crime. *A Century of International Drug Control*. New York, **2009**.
- ³ Bayer, I.; Ghodse, H. Evolution of international drug control, 1945-1995. *Bulletin on Narcotics*, **1999**, LI (1,2).
- ⁴ Plowman, T. In *Cultural Survival Report 23 - Coca and Cocaine: Effects on People and Policy in Latin America*; Latin American Studies Program (LASP), and Cultural Survival, Inc.: Cornell University, **1985**, cap. Coca Chewing and the Botanical Origins of Coca (*Erythroxylum* spp.) in South America.
- ⁵ Cartmell, L. W.; Aufderheide, A. C.; Springfield, A.; Buikstra, J.; Arriaza, B.; Weems, C. *Rev. Chungara*. **1994**, 26, 125.
- ⁶ Hastorf, C. A. *Econ. Bot.*, **1987**, 41(2), 292.
- ⁷ Plowman, T. *Bot. J. Lin. Soc.* **1982**, 84, 329.
- ⁸ Plowman, T.; Hensold, N. *Brittonia*. **2004**, 56, 1.
- ⁹ Bieri, S.; Brachet, A.; Veuthey, J.-L.; Christen, P. *J. Ethnopharmacol.* **2006**, 103, 439.
- ¹⁰ Casale, J. F.; Klein, R. F. X. *Forensic Sci. Rev.* **1993**, 5, 95.
- ¹¹ Plowman, T.; Rivier, L. *Ann. Bot.* **1983**, 51, 641.
- ¹² Sauvain, M.; Rerat, C.; Moretti, C.; Saravia, E.; Arrazola, S.; Gutierrez, E.; Lema, A. M.; Muñoz, V. *J. Ethnopharmacol.* **1997**, 56, 179.
- ¹³ Nathanson, J. a; Hunnicutt, E. J.; Kantham, L.; Scavone, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1993**, 90, 9645.
- ¹⁴ Acock, M. *Ann. Bot.* **1996**, 78, 49.
- ¹⁵ Plowman, T. *J. Ethnopharmacol.* **1981**, 3, 195.
- ¹⁶ Casale, J.; Lydon, J. *J. Forensic Sci.* **2007**, 52, 573.
- ¹⁷ Bacchi, E. M. In *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5^a ed.; Editora da UFRGS/Editora da UFSC: Porto Alegre/Florianópolis, **2004**, cap. 30.

- ¹⁸ Moore, J. M.; Casale, J.F.; Klein, R.X.; Cooper, D.A. *J. Chromatogr A*. **1994**, *659*, 163.
- ¹⁹ Moore, J. M.; Cooper, D.A.; Lurie, I.S.; Kram, T.C.; Carr, S.; Harper, C.; Yeh, J. *J. Chromatogr. A*. **1987**, *410*, 297.
- ²⁰ Lurie, I.S.; Moore, J. M.; Kram, T. C.; Cooper, D.A. *J. Chromatogr A*. **1990**, *504*, 391.
- ²¹ Moore, J. M.; Casale, J.F.; Cooper, D.A. *J. Chromatogr A*. **1996**, *756*, 193.
- ²² Lydon, J.; Casale, J. F.; Kong, H.; Sullivan, J. H.; Daughtry, C. S. T.; Bailey, B. *Photochem. Photobio*. **2009**, *85*, 1156.
- ²³ Costa, A. F.; *Farmacognosia - Volume II*, 4^a ed.; Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, **1994**.
- ²⁴ Dräger, B. *J. Chromatogr. A*. **2002**, *978*, 1.
- ²⁵ Almeida, F. L. A. A. *Análise comparativa de amostras de cocaína apreendidas em diferentes estados brasileiros*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, **2003**.
- ²⁶ Brewer, L. M.; Allen, A. *J. Forensic Sci*. **1991**, *36*, 697.
- ²⁷ Ensing, J. G.; Hummelen, J. C. *J. Forensic Sci*. **1991**, *36*, 1666.
- ²⁸ Maietti, S.; Castagna, F.; Molin, L.; Ferrara, S. D.; Traldi, P. *J. Mass Spectrom*. **2009**, *44*, 1124.
- ²⁹ United Nations Office on Drugs and Crime. *Methods for Impurity Profiling of Heroin and Cocaine*. New York, **2005**.
- ³⁰ Barrio, G.; Saavedra, P.; Fuente, L. de la; Royuela, L. *Forensic Sci. Int*. **1997**, *85*, 15.
- ³¹ Fucci, N.; De Giovanni, N. *Forensic Sci. Int*. **1998**, *95*, 247.
- ³² Odeneal II, N. G.; Casale, J. F.; Wojno, H. L. *Microgram J*. **2004**, *2*, 17.
- ³³ Peters, D. E. *Microgram J*. **2004**, *2*, 11.
- ³⁴ Valentino, A. M. M.; Fuentecilla, K. *Microgram J*. **2005**, *3*, 134.
- ³⁵ Brunt, T. M.; Rigter, S.; Hoek, J.; Vogels, N.; Dijk, P. van; Niesink, R. J. M. *Addiction*. **2009**, *104*, 798.

- ³⁶ Fucci, N. *Forensic Sci. Int.* **2007**, 172, e1.
- ³⁷ Bernardo, N. B.; Siqueira, M. E. P. B.; Paiva, M. J. N.; Maia, P. P. *Int. J. Drug Policy.* **2003**, 14, 331.
- ³⁸ Carvalho, D. G. de; Mídio, A. F. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* **2003**, 39, 71.
- ³⁹ United Nations Office on Drugs and Crime. *Word Drug Report 2010*. Vienna, **2010**.
- ⁴⁰ United Nations Office on Drugs and Crime. *Word Drug Report 2011*. Vienna, **2011**.
- ⁴¹ United Nations Office on Drug Control and Crime Prevention. *Drug Characterization/Impurity Profiling: Background and Concepts*. New York, **2001**.
- ⁴² Moore, J. M.; Casale, J. F. *J. Chromatogr. A.* **1994**, 674, 165.
- ⁴³ Chiarotti, M.; Fucci, N. *J. Chromatogr. B, Biomed. Sci. Appl.* **1999**, 733, 127.
- ⁴⁴ Campanella, L.; Colapichchioni, C.; Tomassetti, M.; Dezzi, S. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1996**, 14, 1047.
- ⁴⁵ Moffat, A.C; Osselton, M.D; Widdop, B. *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*. 3^a Ed. The Pharmaceutical Press: London, 2004.
- ⁴⁶ Piñero, E. L.; Casale, J. F. *Microgram J.* **2006**, 4, 47.
- ⁴⁷ Moore, J. M., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 56, **1973**, 1199.
- ⁴⁸ LeBelle, M.; Lauriault, G.; Callahan, S.; Latham, D.; Chiarelli, C.; Beckstead, H. *J. Forensic Sci.* **1988**, 33, 662.
- ⁴⁹ Esseiva, P.; Gaste, L.; Alvarez, D.; Anglada, F. *Forensic Sci.Int.* **2011**, 207, 27.
- ⁵⁰ Lurie, I. S.; Moore, J. M.; Cooper, D. A.; Kram, T. C. *J. Chromatogr.* **1987**, 405, 273.
- ⁵¹ LeBelle, M.; Callahan, S.; Latham, D.; Lauriault, G.; Savard, C. *J. Forensic Sci.* **1991**, 36, 1102.
- ⁵² Casale, J.F.; Waggoner, R.W. *J. Forensic Sci.* **1991**, 36, 1312.
- ⁵³ Janzen, K. E.; Walter, L.; Fernando, A. R. *J. Forensic Sci.* **1992**, 37, 436.
- ⁵⁴ Ensing, J. G.; Racamy, C.; de Zeeuw, R. A. *J. Forensic Sci.* **1992**, 37, 446.
- ⁵⁵ Casale, J. F.; Watterson, J. W. *J. Forensic Sci.* **1993**, 38, 292.

- ⁵⁶ Moore, J. M.; Cooper, D. A. *J. Forensic Sci.* **1993**, *38*, 1286.
- ⁵⁷ Moore, J. M.; Meyers, R. P.; Jimenez, M. D. *J. Forensic Sci.* **1993**, *38*, 1305.
- ⁵⁸ Casale, J. F.; Moore, J. M. *J. Forensic Sci.* **1994**, *39*, 462.
- ⁵⁹ Janzen, K. E.; Fernando, A. R.; Walter, L. *Forensic Sci. Int.* **1994**, *69*, 23.
- ⁶⁰ Casale, J. F.; Hays, P. a; Toske, S. G.; Berrier, A. L. *J. Forensic Sci.* **2007**, *52*, 860.
- ⁶¹ Lociciro, S.; Hayoz, P.; Esseiva, P.; Dujourdy, L.; Besacier, F.; Margot, P. *Forensic Sci. Int.* **2007**, *167*, 220.
- ⁶² Ehleringer, J.R; Casale, J.F.; Lott, M. J.; Ford, V.L. *Nature.* **2000**, *408*, 311.
- ⁶³ Moore, J. M.; Cooper, D.A.; Lurie, I.S.; Kram, T.C.; Carr, S.; Harper, C.; Yeh, J. *J. Chromatogr. A.* **1987**, *410*, 297.
- ⁶⁴ Lurie, I. S.; Hays, P. A.; Casale, J. F.; Moore, J. M.; Castell, D. M.; Chan, K. C.; Issaq, H. J. *Electrophoresis.* **1998**, *19*, 51.
- ⁶⁵ Ensing, R.; Zeeuw, D. *J. Forensic Sci.* **1991**, *36*, 1299.
- ⁶⁶ Ehleringer, J. R.; Cooper, D. A.; Lott, M. J.; Cook, C. S. *Forensic Sci. Int.* **1999**, *106*, 27.
- ⁶⁷ Casale, J. F.; Ehleringer, J. R.; Morello, D. R.; Lott, M. J. *J. Forensic Sci.* **2005**, *50*, 1315.
- ⁶⁸ Morello, D. R.; Meyers, R. P. *J. Forensic Sci.* **1995**, *40*, 957.
- ⁶⁹ Dujourdy, L.; Besacier, F. *Forensic Sci. Int.* **2008**, *179*, 111.
- ⁷⁰ Lin, D.-L.; Wang, S.-M.; Wu, C.-H.; Chen, B.-G.; Liu, R. H. *J. Food Drug Anal.* **2008**, *16*, 1.
- ⁷¹ Aehle, E.; Dräger, B. *J. Chromatogr. B.* **2010**, *878*, 1391.
- ⁷² Lurie, I. S. *J. Chromatogr. A.* **2005**, *1100*, 168.
- ⁷³ Mueller, C.A.; Weinmann, W.; Dresen, S.; Schreiber, A.; Gergov, M. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, *19*, 1332.
- ⁷⁴ Dresen S.; Ferreirós N.; Gnann H.; Zimmermann R.; Weinmann W. *Anal Bioanal Chem.* **2010**, *396*, 2425.

- ⁷⁵ Lurie I.S.; Toske, S.G. *J Chromatogr A*. **2008**, 1188, 322.
- ⁷⁶ Debrus, B.; Broséus, J.; Guillaume, D.; Lebrun, P.; Hubert, P.; Veuthey, J.-L.; Esseiva, P.; Rudaz, S. *Analytical and bioanalytical chemistry*. **2011**, 399, 2719.
- ⁷⁷ Ferrer, I.; Garciareyes, J.; Fernandezalba, A. *Trends Anal. Chem.* **2005**, 24, 671.
- ⁷⁸ Wood, M.; Laloup, M.; Samyn, N.; Fernandez, M. del M. R.; Bruijn, E. A. de; Maes, R. A. A.; De Boeck, G. *J. Chromatogr. A*. **2006**, 1130, 3.
- ⁷⁹ Nielsen, M. K. K.; Johansen, S. S.; Dalsgaard, P. W.; Linnet, K. *Forensic Sci. Int.* **2010**, 196, 85.
- ⁸⁰ Gergov, M.; Boucher, B.; Ojanperä, I.; Vuori, E. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2001**, 15, 521.
- ⁸¹ Pelander, A.; Ojanperä, I.; Laks, S.; Rasanen, I.; Vuori, E. *Anal. Chem.* **2003**, 75, 5710.
- ⁸² Polettini, A.; Gottardo, R.; Pascali, J. P.; Tagliaro, F. *Anal. Chem.* **2008**, 80, 3050.
- ⁸³ Zhou, J.-L.; Li, P.; Li, H.-J.; Jiang, Y.; Ren, M.-T.; Liu, Y. *J. Chromatogr. A*. **2008**, 1177, 126.
- ⁸⁴ Ferrer, I.; Garciareyes, J.; Mezcua, M.; Thurman, E.; Fernandezalba, A. *J. Chromatogr. A*. **2005**, 1082, 81.
- ⁸⁵ Ferrer, I.; Thurman, E. M.; Fernández-Alba, A. R. *Anal. Chem.* **2005**, 77, 2818.
- ⁸⁶ Ferrer, I.; Thurman, E. M. *J Chromatogr A*. **2007**, 1175, 24.
- ⁸⁷ Lurie, I. S In *High-Performance Liquid Chromatography in Forensic Chemistry*; Lurie, I. S.; Wittwer, J. D., eds.; v. 24; Marcel Dekker INC.: New York, **1983**, ch.1.
- ⁸⁸ Center of Drug Evaluation and Research (CDER) – Food and Drug Administration (FDA). *Validation of Chromatographic Methods – Reviewer Guidance*. **1994**.
- ⁸⁹ Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - INMETRO. *Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos - DOQ-CGCRE-008 - Revisão 02*. **2007**.
- ⁹⁰ Causon, R. *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* **1997**, 689, 175.
- ⁹¹ Anastassiades, M.; Lehotay, S.; Stajnbaher, D.; Schenck, F. J.; *J. AOAC Int.* **2003**, 83, 412.
- ⁹² Prestes, O. D.; Friggi, C. A.; Adaime, M. B.; Zanella, R. *Quim. Nova*. **2009**, 6, 1620.

⁹³ Épshtein, N. A. *Pharm. Chem. J.* **2004**, *38*, 212.

⁹⁴ Kaufmann, A. In *Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry: Principles, Tools, and Applications for Accurate Mass Analysis*; Ferrer, I.; Thurman, E. M., eds.; v. 24; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, **2009**, ch.9.

⁹⁵ Ferrer, I.; Thurman, E. M. *Trends Anal. Chem.* **2003**, *22*, 750.

APÊNDICE 01

RESULTADOS DAS ANÁLISES
QUANTITATIVAS DE TRUXILINAS
POR CG-ECD
(% m/m relativo à cocaína)

	Amostra	Estado	Forma	Classificação. Origem	Total de truxilinas (%)	épsilon (%)	delta (%)	beta (%)	peri (%)	neo (%)	epi (%)	alfa (%)	ômega (%)	gama (%)	zeta (%)
1	AC1	AC	Base	Peru	4,057	0,409	0,467	0,973	0,050	0,209	0,038	1,317	0,306	0,217	0,073
2	AC2	AC	Base	Peru	3,093	0,321	0,355	0,696	0,041	0,158	0,029	1,023	0,258	0,159	0,053
3	AC3	AC	Base	Bolívia	0,546	0,033	0,091	0,139	0,014	0,040	0,007	0,182	0,017	0,016	0,007
4	AC4	AC	Base	Peru	3,022	0,294	0,312	0,687	0,048	0,157	0,030	1,034	0,245	0,161	0,055
5	AC5	AC	Base	Bolívia	2,737	0,232	0,253	0,640	0,033	0,147	0,026	0,977	0,219	0,163	0,049
6	AC6	AC	Base	Peru	3,702	0,370	0,415	0,874	0,047	0,196	0,030	1,216	0,291	0,200	0,063
7	AC7	AC	Base	Peru	3,596	0,348	0,418	0,902	0,053	0,183	0,029	1,164	0,259	0,180	0,060
8	AC8	AC	Base	Peru	3,676	0,356	0,427	0,811	0,059	0,203	0,034	1,214	0,310	0,199	0,062
9	AC9	AC	Base	Peru	3,235	0,318	0,358	0,756	0,053	0,165	0,029	1,091	0,245	0,167	0,054
10	AC10	AC	Base	Peru	3,476	0,346	0,392	0,828	0,045	0,182	0,029	1,142	0,266	0,183	0,062
11	AC11	AC	Base	Peru	3,506	0,343	0,382	0,856	0,044	0,181	0,030	1,166	0,263	0,180	0,061
12	AC12	AC	Base	Bolívia	2,694	0,211	0,232	0,661	0,034	0,146	0,021	0,962	0,216	0,162	0,048
13	AC13	AC	Base	Peru	3,555	0,328	0,362	0,856	0,040	0,187	0,029	1,209	0,281	0,201	0,063
14	AC14	AC	Base	Peru	3,325	0,319	0,379	0,746	0,043	0,168	0,033	1,133	0,280	0,162	0,062
15	AC15	AC	Base	Peru	3,479	0,322	0,408	0,840	0,041	0,185	0,031	1,163	0,252	0,176	0,061
16	AC16	AC	Base	Peru	4,153	0,424	0,466	1,002	0,062	0,208	0,044	1,337	0,318	0,216	0,076
17	AM1	AM	Base	Colômbia	7,887	0,817	1,057	1,816	0,119	0,379	0,078	2,370	0,724	0,374	0,153
18	AM2	AM	Base	Colômbia	6,045	0,649	0,903	1,386	0,077	0,313	0,058	1,780	0,506	0,254	0,119
19	AM3	AM	Base	Colômbia	11,735	1,287	1,715	3,068	0,198	0,543	0,138	3,125	0,877	0,522	0,263
20	AM4	AM	Base	Colômbia	6,516	3,503	3,845	8,436	0,560	1,819	0,404	9,633	3,057	1,829	0,679
21	AM5	AM	Base	Colômbia	11,885	1,413	1,655	3,322	0,209	0,527	0,130	3,081	0,828	0,494	0,226
22	AM6	AM	HCl	Bolívia	0,451	0,019	0,064	0,134	0,008	0,034	0,005	0,158	0,011	0,014	0,004
23	AM7	AM	HCl	Bolívia	0,428	0,015	0,064	0,136	0,008	0,033	0,005	0,144	0,008	0,011	0,004
24	AM8	AM	Base	Colômbia	6,019	0,598	0,830	1,337	0,078	0,350	0,062	1,946	0,406	0,309	0,104
25	AM9	AM	HCl	Bolívia	0,779	0,072	0,111	0,228	0,028	0,045	0,013	0,214	0,032	0,027	0,009
26	AM10	AM	Base	Colômbia	7,648	0,769	0,789	1,921	0,135	0,358	0,081	2,360	0,681	0,397	0,157
27	AM11	AM	Base	Colômbia	10,260	1,082	1,265	2,763	0,155	0,470	0,109	2,904	0,827	0,475	0,213
28	AM12	AM	Base	Colômbia	7,234	0,807	0,816	1,793	0,109	0,338	0,068	2,205	0,607	0,362	0,128

	Amostra	Estado	Forma	Classificação. Origem	Total de truxilinas (%)	épsilon (%)	delta (%)	beta (%)	peri (%)	neo (%)	epi (%)	alfa (%)	ômega (%)	gama (%)	zeta (%)
29	AM13	AM	HCl	Bolívia	0,799	0,058	0,095	0,260	0,023	0,046	0,013	0,232	0,031	0,031	0,009
30	AM14	AM	HCl	Bolívia	0,626	0,030	0,076	0,213	0,014	0,040	0,009	0,198	0,020	0,020	0,006
31	AM15	AM	HCl	Bolívia	0,442	0,013	0,055	0,145	0,006	0,033	0,005	0,156	0,011	0,014	0,004
32	DF1	DF	Base	Peru	3,080	0,277	0,413	0,763	0,042	0,167	0,033	1,002	0,178	0,146	0,059
33	DF2	DF	Base	Bolívia	2,520	0,227	0,333	0,510	0,040	0,113	0,212	0,763	0,150	0,105	0,067
34	DF3	DF	Base	Bolívia	2,707	0,229	0,342	0,590	0,032	0,172	0,032	0,943	0,171	0,147	0,049
35	DF4	DF	Base	Peru	4,508	0,458	0,585	1,242	0,057	0,217	0,042	1,316	0,296	0,189	0,105
36	DF5	DF	Base	Peru	4,639	0,497	0,638	1,282	0,066	0,205	0,045	1,336	0,286	0,196	0,089
37	DF6	DF	Base	Bolívia	2,962	0,261	0,435	0,719	0,038	0,168	0,038	0,953	0,154	0,138	0,059
38	DF7	DF	HCl	Bolívia	0,488	0,020	0,061	0,152	0,006	0,034	0,006	0,172	0,015	0,016	0,005
39	DF8	DF	HCl	Bolívia	0,453	0,016	0,058	0,137	0,007	0,033	0,006	0,165	0,012	0,014	0,005
40	DF9	DF	HCl	Bolívia	1,675	0,116	0,244	0,378	0,030	0,130	0,017	0,563	0,079	0,084	0,033
41	DF10	DF	HCl	Bolívia	1,804	0,129	0,258	0,407	0,032	0,136	0,019	0,608	0,085	0,095	0,035
42	DF11	DF	HCl	Bolívia	1,438	0,087	0,210	0,382	0,024	0,108	0,015	0,472	0,055	0,061	0,023
43	DF12	DF	HCl	Bolívia	1,389	0,083	0,196	0,371	0,024	0,104	0,014	0,458	0,056	0,060	0,023
44	DF13	DF	HCl	Bolívia	0,572	0,028	0,068	0,205	0,010	0,036	0,008	0,175	0,019	0,018	0,006
45	DF14	DF	Base	Peru	3,068	0,295	0,383	0,843	0,040	0,139	0,034	0,938	0,207	0,132	0,058
46	DF15	DF	Base	Bolívia	2,538	0,207	0,381	0,594	0,032	0,152	0,035	0,856	0,115	0,118	0,049
47	DF16	DF	Base	Bolívia	2,527	0,186	0,281	0,535	0,036	0,169	0,026	0,935	0,161	0,153	0,046
48	MS1	MS	HCl	Bolívia	0,728	0,046	0,100	0,232	0,010	0,044	0,007	0,222	0,031	0,025	0,011
49	MS2	MS	Base	Colômbia	5,413	0,007	0,864	1,664	0,120	0,259	0,056	1,734	0,357	0,242	0,111
50	MS3	MS	Base	Peru	3,339	0,350	0,437	0,902	0,064	0,141	0,032	0,999	0,211	0,139	0,064
51	MS4	MS	Base	Peru	4,619	0,501	0,579	1,149	0,066	0,218	0,043	1,439	0,328	0,214	0,084
52	MS5	MS	HCl	Bolívia	1,025	0,082	0,118	0,339	0,025	0,055	0,014	0,284	0,054	0,038	0,016
53	MS6	MS	Base	Peru	4,005	0,399	0,492	0,935	0,063	0,224	0,031	1,294	0,293	0,210	0,065
54	MS7	MS	Base	Peru	3,897	0,330	0,597	0,981	0,064	0,225	0,042	1,215	0,195	0,172	0,076
55	MS8	MS	Base	Bolívia	2,406	0,209	0,362	0,565	0,035	0,144	0,028	0,782	0,121	0,114	0,045
56	MS9	MS	Base	Bolívia	2,241	0,158	0,287	0,476	0,032	0,157	0,021	0,838	0,113	0,123	0,036

	Amostra	Estado	Forma	Classificação. Origem	Total de truxilinas (%)	épsilon (%)	delta (%)	beta (%)	peri (%)	neo (%)	epi (%)	alfa (%)	ômega (%)	gama (%)	zeta (%)
57	MS10	MS	Base	Bolívia	2,824	0,219	0,502	0,608	0,043	0,177	0,033	0,953	0,121	0,113	0,055
58	MS11	MS	Base	Bolívia	2,280	0,166	0,299	0,496	0,031	0,156	0,022	0,833	0,117	0,122	0,038
59	MS12	MS	HCl	Peru	3,404	0,357	0,436	0,793	0,054	0,154	0,054	1,108	0,238	0,147	0,063
60	MS13	MS	Base	Bolívia	2,669	0,226	0,421	0,643	0,031	0,156	0,047	0,865	0,116	0,115	0,049
61	MS14	MS	Base	Peru	3,732	0,351	0,402	0,892	0,045	0,194	0,033	1,257	0,292	0,198	0,068
62	MT1	MT	HCl	Bolívia	2,528	0,184	0,408	0,615	0,034	0,186	0,027	0,795	0,108	0,118	0,053
63	MT2	MT	Base	Bolívia	2,699	0,187	0,364	0,570	0,030	0,214	0,026	0,978	0,129	0,148	0,053
64	MT3	MT	Base	Peru	3,048	0,240	0,469	0,740	0,038	0,207	0,032	0,989	0,125	0,145	0,062
65	MT4	MT	Base	Bolívia	2,807	0,213	0,449	0,685	0,040	0,191	0,033	0,894	0,119	0,129	0,055
66	MT5	MT	Base	Peru	3,709	0,358	0,389	0,914	0,047	0,191	0,027	1,229	0,292	0,196	0,067
67	MT6	MT	Base	Bolívia	2,260	0,154	0,376	0,496	0,029	0,179	0,025	0,771	0,087	0,105	0,038
68	MT7	MT	Base	Bolívia	1,637	0,218	0,251	0,315	0,028	0,097	0,053	0,455	0,125	0,060	0,036
69	MT8	MT	Base	Peru	3,343	0,376	0,430	0,893	0,037	0,186	0,099	0,957	0,168	0,125	0,071
70	MT9	MT	Base	Peru	4,524	0,439	0,438	1,039	0,054	0,223	0,042	1,569	0,388	0,256	0,078
71	MT10	MT	HCl	Bolívia	0,775	0,036	0,068	0,330	0,015	0,039	0,009	0,212	0,033	0,026	0,008
72	MT11	MT	HCl	Bolívia	0,617	0,027	0,064	0,247	0,011	0,034	0,006	0,182	0,020	0,019	0,006
73	MT12	MT	Base	Bolívia	2,511	0,170	0,385	0,568	0,025	0,198	0,025	0,862	0,109	0,122	0,048
74	MT13	MT	Base	Peru	3,840	0,397	0,516	1,070	0,062	0,165	0,040	1,142	0,218	0,156	0,073
75	MT14	MT	Base	Peru	3,919	0,403	0,519	1,098	0,067	0,169	0,044	1,160	0,224	0,161	0,075
76	MT15	MT	Base	Peru	3,991	0,395	0,550	1,152	0,063	0,179	0,042	1,151	0,221	0,158	0,079
77	MT16	MT	Base	Bolívia	1,798	0,137	0,317	0,403	0,005	0,113	0,039	0,612	0,065	0,074	0,033
78	PRF1	PR	HCl	Bolívia	0,715	0,035	0,088	0,245	0,006	0,048	0,012	0,222	0,027	0,026	0,007
79	PRF2	PR	HCl	Bolívia	0,906	0,052	0,102	0,332	0,016	0,051	0,009	0,258	0,042	0,031	0,012
80	PRF3	PR	HCl	Bolívia	0,974	0,047	0,095	0,442	0,019	0,046	0,012	0,241	0,035	0,028	0,011
81	PRF4	PR	HCl	Bolívia	0,617	0,026	0,076	0,211	0,013	0,040	0,007	0,201	0,020	0,017	0,007
82	PRF5	PR	HCl	Bolívia	0,502	0,014	0,051	0,171	0,005	0,029	0,004	0,191	0,019	0,015	0,005
83	PRF6	PR	HCl	Bolívia	2,832	0,265	0,307	0,740	0,044	0,146	0,029	0,896	0,214	0,138	0,054
84	PRF7	PR	HCl	Bolívia	0,943	0,091	0,123	0,196	0,020	0,057	0,012	0,326	0,060	0,044	0,015

	Amostra	Estado	Forma	Classificação. Origem	Total de truxilinas (%)	épsilon (%)	delta (%)	beta (%)	peri (%)	neo (%)	epi (%)	alfa (%)	ômega (%)	gama (%)	zeta (%)
85	PRF8	PR	HCl	Bolívia	0,475	0,013	0,047	0,163	0,005	0,029	0,003	0,178	0,017	0,016	0,005
86	PRF9	PR	HCl	Bolívia	0,610	0,043	0,090	0,160	0,016	0,040	0,009	0,200	0,024	0,019	0,008
87	PRF10	PR	HCl	Bolívia	0,476	0,014	0,056	0,154	0,007	0,032	0,005	0,175	0,014	0,015	0,005
88	PRF11	PR	HCl	Bolívia	0,463	0,004	0,055	0,157	0,001	0,033	0,003	0,186	0,010	0,010	0,003
89	PRF12	PR	Base	Bolívia	2,541	0,033	0,349	0,747	0,017	0,191	0,017	1,055	0,050	0,066	0,017
90	PRF13	PR	Base	Peru	1,871	0,172	0,313	0,419	0,020	0,106	0,021	0,629	0,093	0,070	0,030
91	PRF14	PR	Base	Peru	1,926	0,186	0,318	0,436	0,021	0,114	0,020	0,619	0,100	0,079	0,033
92	PRF15	PR	Base	Peru	3,130	0,265	0,380	0,690	0,039	0,205	0,033	1,084	0,204	0,171	0,059
93	PRF16	PR	Base	Bolívia	2,674	0,211	0,354	0,598	0,039	0,179	0,027	0,931	0,145	0,140	0,048
94	PRF17	PR	Base	Bolívia	2,956	0,209	0,467	0,678	0,045	0,204	0,026	1,028	0,124	0,129	0,047
95	PRF18	PR	Base	Bolívia	2,874	0,231	0,412	0,666	0,041	0,185	0,030	0,964	0,164	0,134	0,047
96	PRF19	PR	Base	Bolívia	3,289	0,257	0,516	0,722	0,047	0,220	0,028	1,150	0,135	0,156	0,057
97	PRF20	PR	Base	Bolívia	2,905	0,245	0,327	0,581	0,042	0,187	0,031	1,064	0,202	0,174	0,053
98	PRF21	PR	Base	Bolívia	2,846	0,224	0,333	0,573	0,040	0,188	0,029	1,054	0,188	0,168	0,049
99	PRF22	PR	Base	Bolívia	3,136	0,262	0,421	0,725	0,049	0,202	0,031	1,042	0,189	0,158	0,057
100	PRF23	PR	HCl	Bolívia	0,734	0,026	0,108	0,155	0,005	0,059	0,005	0,310	0,030	0,030	0,007
101	PR1	PR	HCl	Bolívia	0,290	0,009	0,044	0,070	0,001	0,025	0,001	0,128	0,004	0,007	0,001
102	PR2	PR	Base	Bolívia	2,578	0,189	0,388	0,621	0,036	0,188	0,030	0,835	0,108	0,129	0,054
103	PR3	PR	HCl	Bolívia	2,324	0,172	0,375	0,555	0,032	0,163	0,024	0,751	0,103	0,106	0,044
104	PR4	PR	Base	Bolívia	1,469	0,064	0,216	0,487	0,029	0,111	0,017	0,455	0,032	0,044	0,015
105	PR5	PR	HCl	Bolívia	0,280	0,010	0,044	0,073	0,001	0,024	0,002	0,115	0,001	0,007	0,002
106	PR6	PR	Base	Bolívia	2,099	0,147	0,353	0,509	0,033	0,152	0,026	0,649	0,095	0,092	0,043
107	PR7	PR	HCl	Bolívia	0,697	0,031	0,102	0,258	0,012	0,048	0,008	0,198	0,014	0,019	0,007
108	PR8	PR	HCl	Peru	0,634	0,025	0,107	0,195	0,014	0,054	0,006	0,195	0,011	0,020	0,006
109	PR9	PR	Base	Bolívia	2,954	0,260	0,398	0,583	0,048	0,178	0,027	1,073	0,184	0,157	0,046
110	PR10	PR	HCl	Bolívia	0,638	0,028	0,108	0,199	0,012	0,053	0,007	0,193	0,011	0,019	0,007
111	PR11	PR	HCl	Bolívia	0,618	0,023	0,107	0,196	0,012	0,055	0,006	0,190	0,008	0,017	0,006
112	PR12	PR	Base	Peru	2,757	0,182	0,437	0,676	0,039	0,198	0,037	0,880	0,124	0,125	0,057

	Amostra	Estado	Forma	Classificação. Origem	Total de truxilinas (%)	épsilon (%)	delta (%)	beta (%)	peri (%)	neo (%)	epi (%)	alfa (%)	ômega (%)	gama (%)	zeta (%)
113	PR13	PR	Base	Bolívia	4,527	0,335	0,634	0,935	0,069	0,340	0,049	1,592	0,238	0,250	0,086
114	PR14	PR	HCl	Bolívia	3,713	0,371	0,512	1,135	0,069	0,160	0,042	1,007	0,207	0,137	0,073
115	PR15	PR	HCl	Peru	3,097	0,311	0,413	0,955	0,060	0,128	0,038	0,852	0,166	0,114	0,060
116	PR16	PR	Base	Bolívia	1,939	0,131	0,305	0,432	0,024	0,149	0,018	0,667	0,083	0,094	0,036
117	RO1	RO	Base	Peru	3,447	0,384	0,526	0,915	0,045	0,136	0,069	0,957	0,189	0,132	0,093
118	RO2	RO	Base	Bolívia	2,247	0,221	0,316	0,562	0,035	0,114	0,024	0,681	0,153	0,097	0,044
119	RO3	RO	HCl	Bolívia	0,587	0,013	0,070	0,229	0,007	0,039	0,005	0,189	0,013	0,017	0,004
120	RO4	RO	Base	Peru	4,500	0,401	0,702	1,060	0,070	0,274	0,004	1,498	0,211	0,212	0,070
121	RO5	RO	Base	Peru	3,886	0,296	0,367	0,674	0,042	0,176	0,033	1,047	0,247	0,164	0,053
122	RO6	RO	HCl	Bolívia	2,415	0,158	0,342	0,543	0,031	0,180	0,022	0,876	0,127	0,105	0,031
123	RO7	RO	Base	Bolívia	2,930	0,264	0,511	0,669	0,049	0,161	0,061	0,927	0,120	0,117	0,052
124	RO8	RO	Base	Peru	3,638	0,346	0,492	0,902	0,059	0,186	0,051	1,100	0,242	0,141	0,118
125	RO9	RO	Base	Peru	3,643	0,347	0,496	0,876	0,048	0,189	0,049	1,119	0,249	0,144	0,127
126	RO10	RO	Base	Peru	3,886	0,311	0,479	0,883	0,059	0,240	0,059	1,378	0,209	0,207	0,060
127	RO11	RO	Base	Peru	4,287	0,343	0,510	0,990	0,069	0,266	0,041	1,537	0,232	0,233	0,066
128	RO12	RO	Base	Colômbia	5,094	0,428	0,653	1,108	0,073	0,306	0,044	1,843	0,305	0,256	0,078
129	RO13	RO	Base	Peru	3,273	0,277	0,438	0,661	0,051	0,203	0,030	1,211	0,195	0,156	0,051
130	RO14	RO	Base	Colômbia	6,003	0,524	0,709	1,352	0,090	0,346	0,054	2,135	0,380	0,314	0,100
131	RO15	RO	Base	Bolívia	2,838	0,261	0,282	0,643	0,045	0,153	0,021	0,977	0,234	0,171	0,051
132	RO16	RO	HCl	Bolívia	2,678	0,198	0,330	0,722	0,041	0,168	0,025	0,889	0,163	0,107	0,036
133	RO17	RO	Base	Peru	4,529	0,464	0,586	1,204	0,078	0,197	0,220	1,251	0,262	0,186	0,082
134	RO18	RO	Base	Peru	3,982	0,415	0,539	1,108	0,060	0,179	0,044	1,147	0,242	0,169	0,080
135	RO19	RO	Base	Peru	3,104	0,295	0,333	0,714	0,040	0,164	0,032	1,048	0,248	0,173	0,057
136	RO20	RO	Base	Peru	4,308	0,417	0,418	0,978	0,053	0,218	0,035	1,497	0,373	0,247	0,071
137	SP1	SP	HCl	Bolívia	0,514	0,016	0,068	0,181	0,006	0,038	0,005	0,171	0,010	0,016	0,004
138	SP2	SP	HCl	Bolívia	0,917	0,060	0,106	0,252	0,014	0,066	0,011	0,299	0,048	0,047	0,015
139	SP3	SP	Base	Peru	3,472	0,291	0,444	0,750	0,046	0,220	0,037	1,224	0,215	0,187	0,060
140	SP4	SP	Base	Peru	3,898	0,358	0,499	0,969	0,062	0,190	0,132	1,161	0,246	0,172	0,107

	Amostra	Estado	Forma	Classificação. Origem	Total de truxilinas (%)	épsilon (%)	delta (%)	beta (%)	peri (%)	neo (%)	epi (%)	alfa (%)	ômega (%)	gama (%)	zeta (%)
141	SP5	SP	Base	Bolívia	2,990	0,234	0,365	0,565	0,045	0,214	0,031	1,117	0,181	0,185	0,054
142	SP6	SP	HCl	Bolívia	0,460	0,021	0,062	0,131	0,007	0,034	0,005	0,163	0,015	0,018	0,005
143	SP7	SP	Base	Peru	3,655	0,348	0,410	0,870	0,042	0,190	0,030	1,230	0,280	0,195	0,060
144	SP8	SP	HCl	Bolívia	0,489	0,013	0,062	0,118	0,010	0,038	0,005	0,200	0,018	0,020	0,005
145	SP9	SP	HCl	Bolívia	2,090	0,156	0,301	0,467	0,031	0,137	0,020	0,740	0,099	0,102	0,035
146	SP10	SP	HCl	Bolívia	2,220	0,168	0,325	0,526	0,043	0,161	0,025	0,713	0,104	0,108	0,046
147	SP11	SP	HCl	Bolívia	0,422	0,012	0,062	0,111	0,004	0,034	0,004	0,167	0,013	0,012	0,002
148	SP12	SP	HCl	Bolívia	0,813	0,036	0,114	0,266	0,014	0,063	0,009	0,249	0,023	0,029	0,010
149	SP13	SP	HCl	Bolívia	1,998	0,159	0,301	0,457	0,026	0,135	0,022	0,667	0,091	0,100	0,039
150	SP14	SP	Base	Peru	3,157	0,294	0,487	0,767	0,040	0,173	0,047	0,986	0,155	0,144	0,064
151	SP15	SP	HCl	Bolívia	0,744	0,050	0,115	0,210	0,016	0,055	0,011	0,229	0,023	0,026	0,009
152	SP16	SP	HCl	Bolívia	1,136	0,087	0,145	0,315	0,022	0,075	0,014	0,351	0,057	0,053	0,017
153	SP17	SP	Base	Peru	3,285	0,295	0,458	0,757	0,047	0,202	0,049	1,038	0,191	0,179	0,068
154	SP18	SP	HCl	Bolívia	0,879	0,050	0,118	0,275	0,014	0,058	0,010	0,275	0,041	0,029	0,009
155	SP19	SP	Base	Bolívia	2,322	0,163	0,390	0,563	0,036	0,168	0,029	0,718	0,105	0,102	0,047
156	SP20	SP	Base	Bolívia	2,642	0,218	0,413	0,623	0,040	0,162	0,032	0,855	0,122	0,126	0,052
157	SP21	SP	Base	Bolívia	0,792	0,045	0,111	0,257	0,014	0,057	0,010	0,236	0,022	0,029	0,010
158	SP22	SP	HCl	Bolívia	0,542	0,024	0,073	0,159	0,008	0,041	0,006	0,186	0,018	0,019	0,006
159	SP23	SP	HCl	Bolívia	0,563	0,021	0,071	0,178	0,008	0,042	0,006	0,195	0,016	0,022	0,005
160	SP24	SP	HCl	Bolívia	0,478	0,021	0,074	0,151	0,009	0,037	0,006	0,153	0,010	0,014	0,003

APÊNDICE 02

**RESULTADOS DAS ANÁLISES
QUANTITATIVAS DE TRUXILINAS
POR CLAE/EM
(% m/m relativo à cocaína)**

	Amostra	Estado	Forma	Total de truxilinas (%)
1	AC1	AC	Base	16,204
2	AC2	AC	Base	13,000
3	AC3	AC	Base	3,138
4	AC4	AC	Base	1,196
5	AC5	AC	Base	8,955
6	AC6	AC	Base	9,091
7	AC7	AC	Base	7,636
8	AC8	AC	Base	1,046
9	AC9	AC	Base	7,398
10	AC10	AC	Base	11,899
11	AC11	AC	Base	8,484
12	AC12	AC	Base	8,337
13	AC13	AC	Base	8,744
14	AC14	AC	Base	1,349
15	AC15	AC	Base	9,335
16	AC16	AC	Base	10,610
17	AM1	AM	Base	1,213
18	AM2	AM	Base	2,674
19	AM3	AM	Base	5,909
20	AM4	AM	Base	2,557

	Amostra	Estado	Forma	Total de truxilinas (%)
21	AM5	AM	Base	36,074
22	AM6	AM	HCl	1,112
23	AM7	AM	HCl	1,268
24	AM8	AM	Base	3,549
25	AM9	AM	HCl	0,766
26	AM10	AM	Base	23,940
27	AM11	AM	Base	10,003
28	AM12	AM	Base	10,688
29	AM13	AM	HCl	1,869
30	AM14	AM	HCl	0,898
31	AM15	AM	HCl	1,722
32	DF1	DF	Base	11,260
33	DF2	DF	Base	3,749
34	DF3	DF	Base	5,008
35	DF4	DF	Base	14,773
36	DF5	DF	Base	17,936
37	DF6	DF	Base	17,706
38	DF7	DF	HCl	1,079
39	DF8	DF	HCl	1,048
40	DF9	DF	HCl	3,652

	Amostra	Estado	Forma	Total de truxilinas (%)
41	DF10	DF	HCl	4,032
42	DF11	DF	HCl	5,938
43	DF12	DF	HCl	5,548
44	DF13	DF	HCl	1,537
45	DF14	DF	Base	4,301
46	DF15	DF	Base	20,329
47	DF16	DF	Base	12,008
48	MS1	MS	HCl	0,609
49	MS2	MS	Base	1,763
50	MS3	MS	Base	2,644
51	MS4	MS	Base	9,920
52	MS5	MS	HCl	1,315
53	MS6	MS	Base	1,019
54	MS7	MS	Base	3,592
55	MS8	MS	Base	12,444
56	MS9	MS	Base	7,887
57	MS10	MS	Base	3,692
58	MS11	MS	Base	7,220
59	MS12	MS	HCl	1,383
60	MS13	MS	Base	13,341

	Amostra	Estado	Forma	Total de truxilinas (%)
61	MS14	MS	Base	3,923
62	MT1	MT	HCl	5,885
63	MT2	MT	Base	10,190
64	MT3	MT	Base	16,393
65	MT4	MT	Base	12,412
66	MT5	MT	Base	13,375
67	MT6	MT	Base	9,415
68	MT7	MT	Base	3,192
69	MT8	MT	Base	13,007
70	MT9	MT	Base	18,206
71	MT10	MT	HCl	2,191
72	MT11	MT	HCl	1,877
73	MT12	MT	Base	1,278
74	MT13	MT	Base	16,342
75	MT14	MT	Base	17,343
76	MT15	MT	Base	16,212
77	MT16	MT	Base	8,534
78	PRF1	PR	HCl	1,037
79	PRF2	PR	HCl	1,151
80	PRF3	PR	HCl	2,032

	Amostra	Estado	Forma	Total de truxilinas (%)
81	PRF4	PR	HCl	1,512
82	PRF5	PR	HCl	0,941
83	PRF6	PR	HCl	4,470
84	PRF7	PR	HCl	2,248
85	PRF8	PR	HCl	1,617
86	PRF9	PR	HCl	1,313
87	PRF10	PR	HCl	0,853
88	PRF11	PR	HCl	0,683
89	PRF12	PR	Base	2,684
90	PRF13	PR	Base	6,135
91	PRF14	PR	Base	5,970
92	PRF15	PR	Base	11,769
93	PRF16	PR	Base	9,051
94	PRF17	PR	Base	16,220
95	PRF18	PR	Base	1,097
96	PRF19	PR	Base	13,796
97	PRF20	PR	Base	10,087
98	PRF21	PR	Base	8,437
99	PRF22	PR	Base	10,928
100	PRF23	PR	HCl	1,340

	Amostra	Estado	Forma	Total de truxilinas (%)
101	PR1	PR	HCl	0,540
102	PR2	PR	Base	16,681
103	PR3	PR	HCl	9,470
104	PR4	PR	Base	4,934
105	PR5	PR	HCl	2,094
106	PR6	PR	Base	13,471
107	PR7	PR	HCl	2,562
108	PR8	PR	HCl	2,814
109	PR9	PR	Base	5,505
110	PR10	PR	HCl	2,559
111	PR11	PR	HCl	2,601
112	PR12	PR	Base	15,595
113	PR13	PR	Base	13,419
114	PR14	PR	HCl	10,610
115	PR15	PR	HCl	5,327
116	PR16	PR	Base	18,639
117	RO1	RO	Base	11,997
118	RO2	RO	Base	8,789
119	RO3	RO	HCl	1,350
120	RO4	RO	Base	19,058

	Amostra	Estado	Forma	Total de truxilinas (%)
121	RO5	RO	Base	26,974
122	RO6	RO	HCl	1,819
123	RO7	RO	Base	12,704
124	RO8	RO	Base	12,817
125	RO9	RO	Base	13,613
126	RO10	RO	Base	19,042
127	RO11	RO	Base	13,970
128	RO12	RO	Base	7,253
129	RO13	RO	Base	13,958
130	RO14	RO	Base	33,995
131	RO15	RO	Base	6,647
132	RO16	RO	HCl	3,230
133	RO17	RO	Base	2,006
134	RO18	RO	Base	10,476
135	RO19	RO	Base	1,065
136	RO20	RO	Base	6,800
137	SP1	SP	HCl	0,973
138	SP2	SP	HCl	4,364
139	SP3	SP	Base	7,230
140	SP4	SP	Base	12,186

	Amostra	Estado	Forma	Total de truxilinas (%)
141	SP5	SP	Base	7,891
142	SP6	SP	HCl	0,788
143	SP7	SP	Base	4,344
144	SP8	SP	HCl	1,518
145	SP9	SP	HCl	7,477
146	SP10	SP	HCl	13,143
147	SP11	SP	HCl	0,821
148	SP12	SP	HCl	2,896
149	SP13	SP	HCl	3,206
150	SP14	SP	Base	15,829
151	SP15	SP	HCl	2,259
152	SP16	SP	HCl	3,863
153	SP17	SP	Base	14,152
154	SP18	SP	HCl	2,124
155	SP19	SP	Base	1,803
156	SP20	SP	Base	16,208
157	SP21	SP	Base	3,739
158	SP22	SP	HCl	1,666
159	SP23	SP	HCl	2,117
160	SP24	SP	HCl	1,006

APÊNDICE 03

RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE
COCAÍNA, CIS E TRANS-CINAMOILCOCAÍNA

POR CG/DIC;

E PRESENÇA DE ADULTERANTES

POR CG/DIC E CLAE/EM

(% de cis e trans-cinamoilcocaína
expressos em m/m relativo à cocaína)

	Amostra	Estado	Forma	Teor de Cocaína (%)	Cis-cinamoil cocaína (%)	Trans-cinamoil cocaína (%)	Total de cinamoilcocaína (%)	Grau de Oxidação	BEN	FEN	CAF	LEV	LID	PRO	HID	DIL	PAR
1	AC1	AC	Base	82,640	7,652	5,546	13,20	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	AC2	AC	Base	77,992	7,308	5,422	12,73	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
3	AC3	AC	Base	76,759	2,034	1,352	3,39	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
4	AC4	AC	Base	73,193	1,164	0,613	1,78	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	AC5	AC	Base	76,286	5,099	2,914	8,01	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	AC6	AC	Base	75,991	6,903	4,593	11,50	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
7	AC7	AC	Base	71,756	3,792	3,010	6,80	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	AC8	AC	Base	60,937	0,581	0,272	0,85	Alto	-	SIM	SIM	-	-	-	-	-	-
9	AC9	AC	Base	66,563	4,439	3,183	7,62	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	AC10	AC	Base	79,569	5,413	3,441	8,85	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	AC11	AC	Base	73,477	5,360	3,739	9,10	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
12	AC12	AC	Base	85,005	4,803	2,475	7,28	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	AC13	AC	Base	73,215	4,899	2,975	7,87	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
14	AC14	AC	Base	73,626	1,608	0,621	2,23	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	AC15	AC	Base	55,624	7,384	4,906	12,29	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
16	AC16	AC	Base	70,993	4,930	3,330	8,26	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
17	AM1	AM	Base	41,143	0,612	0,207	0,82	Alto	-	SIM	SIM	-	-	-	-	-	-
18	AM2	AM	Base	42,861	1,650	0,747	2,40	Médio	-	SIM	SIM	-	-	-	-	-	-
19	AM3	AM	Base	52,124	1,333	1,065	2,40	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	AM4	AM	Base	19,298	0,000	0,000	0,00	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	AM5	AM	Base	70,206	6,652	5,256	11,91	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	AM6	AM	HCl	78,409	1,052	0,957	2,01	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	AM7	AM	HCl	75,067	1,096	0,964	2,06	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	AM8	AM	Base	70,921	1,369	0,594	1,96	Alto	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
25	AM9	AM	HCl	77,624	0,947	0,710	1,66	Alto	-	-	SIM	-	-	-	-	-	-
26	AM10	AM	Base	40,807	5,798	6,107	11,90	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
27	AM11	AM	Base	56,860	0,118	0,348	0,47	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	AM12	AM	Base	71,828	3,141	1,935	5,08	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-

	Amostra	Estado	Forma	Teor de Cocaína (%)	Cis-cinamoil cocaína (%)	Trans-cinamoil cocaína (%)	Total de cinamoilcocaína (%)	Grau de Oxidação	BEN	FEN	CAF	LEV	LID	PRO	HID	DIL	PAR
29	AM13	AM	HCl	79,622	1,377	1,160	2,54	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	AM14	AM	HCl	79,401	1,178	1,033	2,21	Médio	-	-	SIM	-	-	-	-	-	-
31	AM15	AM	HCl	79,390	1,218	1,470	2,69	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	DF1	DF	Base	76,515	0,000	0,271	0,27	Alto	-	SIM	-	SIM	-	-	-	-	-
33	DF2	DF	Base	59,990	2,547	1,889	4,44	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
34	DF3	DF	Base	71,988	3,030	1,677	4,71	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
35	DF4	DF	Base	71,341	6,627	4,881	11,51	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
36	DF5	DF	Base	77,631	7,073	4,501	11,57	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	DF6	DF	Base	76,634	5,312	3,625	8,94	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
38	DF7	DF	HCl	81,371	1,485	1,371	2,86	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	DF8	DF	HCl	83,055	1,489	1,326	2,82	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	DF9	DF	HCl	72,259	0,100	0,185	0,29	Alto	-	SIM	-	SIM	-	-	-	-	-
41	DF10	DF	HCl	75,104	0,122	0,252	0,37	Alto	-	SIM	-	SIM	-	-	-	-	-
42	DF11	DF	HCl	61,838	1,255	1,753	3,01	Médio	-	SIM	SIM	SIM	-	-	-	-	-
43	DF12	DF	HCl	66,227	1,357	1,738	3,10	Médio	-	SIM	SIM	SIM	-	-	-	-	-
44	DF13	DF	HCl	79,916	0,990	0,987	1,98	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	DF14	DF	Base	72,626	0,096	0,205	0,30	Alto	-	-	-	SIM	-	-	-	-	-
46	DF15	DF	Base	71,185	6,636	6,749	13,38	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	DF16	DF	Base	74,029	3,426	3,139	6,56	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	MS1	MS	HCl	71,999	0,658	0,853	1,51	Alto	-	-	-	-	-	-	SIM	-	-
49	MS2	MS	Base	46,757	1,818	2,201	4,02	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	MS3	MS	Base	78,189	1,636	0,785	2,42	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
51	MS4	MS	Base	74,793	3,788	2,988	6,78	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
52	MS5	MS	HCl	76,419	1,548	0,971	2,52	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	MS6	MS	Base	55,700	0,610	0,293	0,90	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	MS7	MS	Base	59,434	1,923	0,791	2,71	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
55	MS8	MS	Base	82,585	6,452	3,870	10,32	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	MS9	MS	Base	77,928	3,798	1,939	5,74	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-

	Amostra	Estado	Forma	Teor de Cocaína (%)	Cis-cinamoil cocaína (%)	Trans-cinamoil cocaína (%)	Total de cinamoilcocaína (%)	Grau de Oxidação	BEN	FEN	CAF	LEV	LID	PRO	HID	DIL	PAR
57	MS10	MS	Base	39,660	3,376	2,945	6,32	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	MS11	MS	Base	73,589	3,833	2,061	5,89	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	MS12	MS	HCl	42,859	2,438	3,766	6,20	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	MS13	MS	Base	73,895	6,118	5,279	11,40	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	MS14	MS	Base	69,186	1,919	1,366	3,29	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
62	MT1	MT	HCl	73,486	0,000	2,146	2,15	Médio	-	-	-	SIM	-	-	-	-	-
63	MT2	MT	Base	75,804	4,026	3,584	7,61	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
64	MT3	MT	Base	70,957	5,275	3,867	9,14	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	MT4	MT	Base	76,625	4,855	3,256	8,11	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	MT5	MT	Base	78,125	4,884	3,864	8,75	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	MT6	MT	Base	44,730	4,892	4,650	9,54	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
68	MT7	MT	Base	78,619	1,495	1,099	2,59	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	MT8	MT	Base	69,465	7,166	6,433	13,60	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70	MT9	MT	Base	81,734	6,439	5,096	11,53	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
71	MT10	MT	HCl	77,904	1,578	1,893	3,47	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	MT11	MT	HCl	78,632	1,580	2,252	3,83	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	MT12	MT	Base	52,449	3,979	4,143	8,12	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	MT13	MT	Base	64,198	6,212	4,718	10,93	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	MT14	MT	Base	72,867	6,467	4,939	11,41	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	MT15	MT	Base	70,910	6,446	4,896	11,34	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	MT16	MT	Base	66,294	4,426	3,133	7,56	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78	PRF1	PR	HCl	82,045	1,084	1,379	2,46	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	PRF2	PR	HCl	76,245	1,146	1,415	2,56	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	PRF3	PR	HCl	83,470	1,138	1,326	2,46	Médio	-	-	SIM	-	-	-	-	-	-
81	PRF4	PR	HCl	85,725	1,633	1,453	3,09	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
82	PRF5	PR	HCl	85,032	1,195	1,356	2,55	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83	PRF6	PR	HCl	68,669	0,149	0,948	1,10	Alto	-	-	-	SIM	-	-	-	-	-
84	PRF7	PR	HCl	86,396	1,663	0,918	2,58	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Amostra	Estado	Forma	Teor de Cocaína (%)	Cis-cinamoil cocaína (%)	Trans-cinamoil cocaína (%)	Total de cinamoilcocaína (%)	Grau de Oxidação	BEN	FEN	CAF	LEV	LID	PRO	HID	DIL	PAR
85	PRF8	PR	HCl	86,690	1,463	0,929	2,39	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86	PRF9	PR	HCl	87,488	0,809	0,616	1,43	Alto	-	-	-	SIM	-	-	-	-	-
87	PRF10	PR	HCl	87,021	1,284	1,276	2,56	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88	PRF11	PR	HCl	67,578	0,975	1,253	2,23	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89	PRF12	PR	Base	12,043	0,000	0,000	0,00	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	SIM
90	PRF13	PR	Base	76,682	5,327	4,879	10,21	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
91	PRF14	PR	Base	75,756	5,437	4,759	10,20	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
92	PRF15	PR	Base	82,377	4,475	2,837	7,31	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
93	PRF16	PR	Base	85,242	2,340	2,434	4,77	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
94	PRF17	PR	Base	42,625	1,225	2,102	3,33	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
95	PRF18	PR	Base	46,382	1,434	2,242	3,68	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	PRF19	PR	Base	50,536	3,938	3,140	7,08	Baixo	SIM	SIM	SIM	-	-	-	-	-	-
97	PRF20	PR	Base	81,641	5,179	3,312	8,49	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98	PRF21	PR	Base	78,119	3,970	2,540	6,51	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
99	PRF22	PR	Base	78,323	4,460	3,097	7,56	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
100	PRF23	PR	HCl	57,505	1,661	0,930	2,59	Médio	-	-	-	SIM	-	-	-	-	-
101	PR1	PR	HCl	76,792	0,718	0,952	1,67	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
102	PR2	PR	Base	77,632	6,296	4,569	10,87	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
103	PR3	PR	HCl	66,176	0,302	3,285	3,59	Médio	-	-	-	SIM	-	-	-	-	-
104	PR4	PR	Base	34,310	1,274	1,038	2,31	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
105	PR5	PR	HCl	86,643	4,932	2,500	7,43	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
106	PR6	PR	Base	76,853	1,520	1,425	2,94	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
107	PR7	PR	HCl	85,195	1,380	1,507	2,89	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
108	PR8	PR	HCl	80,932	1,405	1,362	2,77	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
109	PR9	PR	Base	73,181	3,592	2,842	6,43	Baixo	-	SIM	-	-	SIM	-	-	-	-
110	PR10	PR	HCl	84,263	1,468	1,572	3,04	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
111	PR11	PR	HCl	84,313	1,403	1,430	2,83	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	PR12	PR	Base	51,000	7,104	5,233	12,34	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-

	Amostra	Estado	Forma	Teor de Cocaína (%)	Cis-cinamoil cocaína (%)	Trans-cinamoil cocaína (%)	Total de cinamoilcocaína (%)	Grau de Oxidação	BEN	FEN	CAF	LEV	LID	PRO	HID	DIL	PAR
113	PR13	PR	Base	40,840	5,813	5,218	11,03	Baixo	SIM	SIM	-	-	-	-	-	-	-
114	PR14	PR	HCl	84,115	0,000	0,350	0,35	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
115	PR15	PR	HCl	84,306	0,280	0,553	0,83	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
116	PR16	PR	Base	55,137	7,353	5,503	12,86	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
117	RO1	RO	Base	75,061	4,600	3,327	7,93	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	RO2	RO	Base	88,659	5,236	3,177	8,41	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
119	RO3	RO	HCl	81,615	1,353	1,505	2,86	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	RO4	RO	Base	75,977	5,267	2,682	7,95	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
121	RO5	RO	Base	73,327	1,714	0,702	2,42	Médio	-	SIM	SIM	-	-	-	-	-	-
122	RO6	RO	HCl	22,820	1,258	2,226	3,48	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
123	RO7	RO	Base	67,709	5,442	3,045	8,49	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
124	RO8	RO	Base	64,426	6,693	5,006	11,70	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
125	RO9	RO	Base	63,102	6,986	5,329	12,31	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
126	RO10	RO	Base	69,498	7,874	6,215	14,09	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
127	RO11	RO	Base	67,709	5,442	3,045	8,49	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
128	RO12	RO	Base	67,569	3,482	2,683	6,17	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
129	RO13	RO	Base	76,878	5,241	5,785	11,03	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
130	RO14	RO	Base	71,274	8,933	8,218	17,15	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
131	RO15	RO	Base	82,394	3,896	1,901	5,80	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
132	RO16	RO	HCl	19,676	1,311	1,138	2,45	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
133	RO17	RO	Base	65,550	1,431	0,805	2,24	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
134	RO18	RO	Base	88,387	4,676	2,280	6,96	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
135	RO19	RO	Base	79,280	1,942	0,816	2,76	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
136	RO20	RO	Base	76,976	2,727	1,549	4,28	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
137	SP1	SP	HCl	76,996	1,036	1,621	2,66	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
138	SP2	SP	HCl	85,055	0,482	0,596	1,08	Alto	-	-	-	SIM	-	-	-	SIM	-
139	SP3	SP	Base	56,791	5,240	4,309	9,55	Baixo	-	SIM	SIM	-	SIM	-	-	-	-
140	SP4	SP	Base	66,144	4,557	2,986	7,54	Baixo	-	SIM	SIM	-	-	-	-	-	-

	Amostra	Estado	Forma	Teor de Cocaína (%)	Cis-cinamoil cocaína (%)	Trans-cinamoil cocaína (%)	Total de cinamoilcocaína (%)	Grau de Oxidação	BEN	FEN	CAF	LEV	LID	PRO	HID	DIL	PAR
141	SP5	SP	Base	74,745	4,743	2,880	7,62	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
142	SP6	SP	HCl	84,266	1,153	1,398	2,55	Médio	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
143	SP7	SP	Base	59,997	4,625	4,217	8,84	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
144	SP8	SP	HCl	79,326	2,250	0,969	3,22	Médio	-	SIM	-	SIM	-	-	-	-	-
145	SP9	SP	HCl	73,501	0,502	0,433	0,93	Alto	-	-	-	SIM	SIM	-	-	-	-
146	SP10	SP	HCl	69,146	0,000	2,349	2,35	Médio	-	-	-	SIM	-	-	-	-	-
147	SP11	SP	HCl	81,677	0,900	0,812	1,71	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
148	SP12	SP	HCl	79,589	1,617	1,612	3,23	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
149	SP13	SP	HCl	76,772	0,617	1,643	2,26	Médio	-	SIM	-	SIM	-	-	-	-	-
150	SP14	SP	Base	71,717	5,940	4,625	10,57	Baixo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
151	SP15	SP	HCl	73,918	1,069	1,031	2,10	Médio	-	-	-	SIM	SIM	-	-	-	-
152	SP16	SP	HCl	77,204	1,495	1,504	3,00	Médio	-	SIM	-	SIM	-	-	-	-	-
153	SP17	SP	Base	56,952	5,612	3,210	8,82	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
154	SP18	SP	HCl	58,249	1,068	1,133	2,20	Médio	-	-	-	-	SIM	-	-	-	-
155	SP19	SP	Base	69,479	0,763	0,750	1,51	Alto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
156	SP20	SP	Base	69,718	5,485	3,328	8,81	Baixo	-	SIM	-	-	-	-	-	-	-
157	SP21	SP	Base	71,886	1,504	1,416	2,92	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
158	SP22	SP	HCl	77,895	1,220	0,992	2,21	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
159	SP23	SP	HCl	77,068	1,296	1,129	2,43	Médio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
160	SP24	SP	HCl	86,815	0,915	1,161	2,08	Médio	-	-	-	-	SIM	-	SIM	-	-

Nota: BEN (Benzocaína), FEN (Fenacetina), CAF (Cafeína), LEV (Levamisol), LID (Lidocaína), PRO (Procaina), HID (Hidroxizina), Diltiazem (DIL) e Paracetamol (PAR).