Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

“Estudo teórico de opioides sintéticos no contexto das Novas Substâncias Psicoativas”

Luiz Felipe Colli Sinhorini

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**

Ribeirão Preto - SP

2020

Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

“Estudo teórico de opioides sintéticos no contexto das Novas Substâncias Psicoativas”

Luiz Felipe Colli Senhorini

Orientadora: Prof. Dra. Aline Thaís Bruni

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**

Ribeirão Preto - SP

2020

RESUMO

SINHORINI, Luiz Felipe Colli. **Estudo teórico de opioides sintéticos no contexto das Novas Substâncias Psicoativas**. 2020, 119 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

Substâncias análogas sintéticas do fentanil que não foram aprovadas para uso médico são conhecidas como fentanils não farmacêuticos (NPF, *Non-Pharmaceutical Fentanyl*s). Sua síntese clandestina envolve a modificação química de um medicamento existente, que pode ter efeitos farmacológicos imprevisíveis. Essas mudanças também tornam a identificação química difícil. Como novas estruturas estão surgindo em um ritmo rápido, os métodos experimentais usados para caracterizar essas substâncias não conseguem acompanhar esse ritmo. Nesse cenário, os métodos *in silico* tornaram-se uma alternativa para estudar esses sistemas. Neste trabalho aplicamos o planejamento fatorial para decidir as melhores condições relacionadas a métodos de teoria do funcional da densidade (DFT, *Density Functional Theory*) para realizar os cálculos. O método que apresentou os melhores resultados foi o conjunto B3LYP, 6-311G**, LooseSCF e NormalOpt, pois reproduziu de maneira satisfatória as estruturas experimentais utilizadas para comparação. Essas condições foram usadas para calcular o espectro infravermelho de 45 NPF apreendidos reportados na literatura. Os espectros calculados foram validados por comparação com dados experimentais e têm potencial, portanto, de servirem como uma referência para compostos desconhecidos. Métodos quimiométricos foram utilizados para estabelecer as principais características dessas substâncias de acordo com a variação estrutural. Métodos *in silico* também foram utilizados para estudar a tendência de comportamento biológico dessas substâncias. Para isso, utilizamos métodos de ancoragem molecular, que dão uma ideia sobre a interação dessas drogas com o receptor. Os metabólitos dessas substâncias também foram estudados por metodologia computacional e puderam ser comparados com resultados reportados na literatura. Em conclusão, os métodos *in silico* forneceram informações valiosas sobre substâncias ilegais. Além disso, esses métodos são úteis para prever as propriedades espectroscópicas e biológicas dos NPF e para melhorar a qualidade das informações disponíveis sobre eles.

Palavras-chave: Opioides sintéticos, simulação computacional, DFT, quimiometria, *docking* molecular.

ABSTRACT

SINHORINI, Luiz Felipe Colli. **Theoretical study of synthetic opioids in the context of the New Psychoactive Substances.** 2020, 119 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

Synthetic fentanyl analog substances that have not been approved for medical use are known as Non-Pharmaceutical Fentanyls (NPF). Its clandestine synthesis involves the chemical modification of an existing drug, which can lead to unpredictable pharmacological effects. These changes also make chemical identification difficult. As new structures are emerging at a rapid rate, the experimental methods used to characterize these substances cannot keep pace. In this scenario, *in silico* methods have become an alternative to study these systems. In this work we apply factorial planning to decide the best conditions related to Density Functional Theory (DFT) to perform the calculations. The method that presented the best results was the B3LYP, 6-311G **, LooseSCF and NormalOpt set, as it reproduced in a satisfactory way the experimental structures used for comparison. These conditions were used to calculate the infrared spectrum of 45 apprehended NPF reported in the literature. The calculated spectra were validated by comparison with experimental data and therefore have the potential to serve as a reference for unknown compounds. Chemometric methods were used to establish the main characteristics of these substances according to the structural variation. *In silico* methods were also used to study the tendency of biological behavior of these substances. In this sense, we use molecular docking methods, which give an idea about the interaction of these drugs with its receptors. The metabolites of these substances were also studied by computational methodology and could be compared with results reported in the literature. In conclusion, *in silico* methods provided valuable information on illegal substances. In addition, these methods are useful for predicting the spectroscopic and biological properties of NPF and for improving the quality of available information about them.

Key words: Synthetic opioids, computational simulation, DFT, chemometrics, molecular docking.

Sumário

I – Introdução.....	7
Fentanil e seus análogos.....	7
Os primeiros surgimentos dos NPFs	8
A epidemia dos opioides	9
Produção e tráfico dos NPFs	10
Contenção das Novas Substâncias Psicoativas no Brasil.....	12
Utilização de métodos computacionais para o estudo dos NPS.....	13
II - Conclusão	14
III – Referências Bibliográficas.....	15

I – Introdução

Fentanil e seus análogos

O fentanil (nome químico N-fenil-N-[1-(2-feniletil)piperidin-4-il]propanamida, fórmula molecular $C_{22}H_{28}N_2O$ e massa molar $336,47 \text{ g.mol}^{-1}$) é um opioide sintético utilizado como analgésico e anestésico desde 1972¹. Ele foi sintetizado pela Janssen Pharmaceutical, na Bélgica, em 1960¹. Seu primeiro uso médico foi em cirurgias como um anestésico intravenoso e hoje é um dos medicamentos mais utilizados para o tratamento de dores pós-operatórias, severas e crônicas em todo o mundo². Seu efeito farmacêutico é produzido pela atividade agonista com o receptor μ -opioide do sistema nervoso central^{3,4}. Estima-se que o fentanil seja em torno de 100 vezes mais potente que a morfina, e cerca de 30-50 vezes mais potente que a heroína³.

Diferente da morfina ($C_{17}H_{19}NO_3$), um opiáceo isolado da papoula (*Papaver somniferum*), e da heroína ($C_{21}H_{23}NO_5$), um opioide semissintético derivado da morfina, o fentanil é totalmente sintetizado em laboratório⁵. Apesar de apresentar mecanismo de ação e propriedades similares aos opiáceos e opioides, ele estruturalmente pertence a uma classe de opioides sintéticos denominada de 4-anilidopiperidina^{5,6}. Como o nome sugere, essa classe é caracterizada pelas substâncias com a presença de um grupo anilina (C_6H_7N) ligada a um anel piperidina ($C_5H_{11}N$) com o átomo de nitrogênio na posição 4.

A repetida administração do fentanil leva à dependência e tolerância, e o seu simples uso gera sintomas como sonolência, euforia, constrição das pupilas e depressão respiratória. Este último efeito é o principal causador das mortes por overdose, uma vez que leva à parada respiratória e ao edema pulmonar^{4,7}. O uso do fentanil também pode causar efeitos colaterais como náusea, tontura e vômito, e sintomas de abstinência como ansiedade, câimbra, dores nos ossos e diarreia⁸.

Devido a sua alta solubilidade lipídica, o fentanil rapidamente cruza a barreira hematoencefálica, proporcionando uma ação mais rápida e de menor duração^{5,7}. Quando comparado à morfina, o fármaco até então mais utilizado, gera menos riscos cardiovasculares⁹. Aliado a isso, a síntese do fentanil se mostrou mais vantajosa economicamente do que a obtenção da morfina a partir da papoula, devido a grande disponibilidade de precursores sintéticos^{5,7}. Essas vantagens fizeram com que o fentanil

rapidamente emergisse como o analgésico mais utilizado no mundo⁸ e, posteriormente, como uma poderosa droga de abuso¹⁰.

Seguindo o sucesso do fentanil, muitos análogos foram desenvolvidos por meio de modificações em sua estrutura. Embora o objetivo dessas sínteses fosse produzir novos fármacos¹¹, como o sufentanil, alfentanil e o remifentanil, isso possibilitou que novos estudos e métodos fossem disponibilizados e utilizados para a produção de novas drogas de abuso na forma de Novas Substâncias Psicoativas (NPS, do inglês *New Psychoactive Substances*)⁸.

O fentanil e suas substâncias análogas que são produzidos ilegalmente ou que não tenham seu uso médico aprovado são conhecidos por NPF (*Nonpharmaceutical fentanyl*)⁹, uma classe dentro das NPS. Eles são drogas sintetizadas clandestinamente por meio de uma modificação química em uma droga já existente. Com essa modificação, a nova droga pode tanto manter seus efeitos farmacológicos como amenizá-los ou potencializá-los. Além disso, ela pode se tornar indetectável pelos métodos rotineiros de análise e não ter sua produção e comércio regularizado pelos órgãos de controle, facilitando sua produção e o tráfico⁵. As principais modificações podem ser vistas no Capítulo V – Sistema de estudos.

Os primeiros surgimentos dos NPFs

Os primeiros casos documentados do uso ilícito do fentanil, ou um análogo, em larga escala foi em 1979 na Califórnia, EUA, quando uma série de overdoses supostamente provocada por opioides foi reportada. Entretanto, apesar da necropsia e dos vestígios encontrados confirmarem a suspeita das mortes, nenhum traço de heroína ou algum outro opioide rotineiramente analisado foi identificado. A droga em questão era o alfa-metilfentanil (AMF), um NPF que só foi identificado meses depois por meio de uma ação do DEA (do inglês *Drug Enforcement Administration*) contra a entrada de heroína vinda do sudeste asiático⁵. O segundo surto de um NPF aconteceu em 1984 na Pensilvânia, EUA. O 3-metilfentanil, um dos dois mais potentes análogos do fentanil já criado, foi responsável por 16 mortes por overdose¹.

No início dos anos 90, dez NPFs já haviam sido identificados no mercado ilícito¹³. Entretanto, foi entre 2005 e 2007 que houve o maior surto de overdose causada pelos NPFs antes do início da epidemia em 2013. Esse surto teve fim após o rastreamento dessas drogas, que levaram a um único laboratório clandestino em Toluca no México. Esse fato

teve como consequência a regulação dos principais precursores utilizados na síntese do fentanil, o N-fenetil-4-piperidinona (NPP) em 2007, e o 1-fenetil-N-fenilpiperidin-4-amina (ANPP) em 2010⁵.

Além das mortes provenientes do tráfico, desde 1972 há o registro de diversas overdoses causadas pelo uso acidental ou indevido do fentanil⁹. Essas overdoses estão relacionadas à exposição diária e ao fácil acesso à droga por parte dos anestesiológicos e cirurgiões, e à popularização do uso farmacêutico do fentanil por meio da liberação de adesivos transdérmicos. Essas overdoses foram tantas que o fentanil passou a ser prescrito apenas nos casos em que um opioide menos potente não seria suficiente para o alívio da dor, ou quando o paciente já havia desenvolvido tolerância a outros opioides⁵.

A epidemia dos opioides

A epidemia causada pelos opioides teve início em 2013 nos EUA, quando o número de mortes provocadas por opioides sintéticos, no geral, subiu 79%¹⁴. Em 2014, o número de mortes relacionadas a qualquer tipo de opioide atingiu 28.647 casos¹⁵, representando 61% de todas as mortes por overdose no país¹⁶. Esse aumento foi seguido pelo número de apreensões contendo fentanil, que subiu 426%, representando 3,87% do total de apreensões de drogas daquele ano¹⁷. Além do fentanil, o acetilfentanil, o butirfentanil, e o beta-hidroxitiofentanil surgiram para o mercado ilícito de drogas em 2013, 2014 e 2015, respectivamente, sendo responsáveis por centenas de overdoses por todo o país¹⁸. No ano de 2015, o número de apreensões do fentanil já havia triplicado, atingindo 14.051 detecções, se tornando a nona droga mais identificada de todos EUA¹⁷.

Já em 2016, o número de NPF proliferou, passando de apenas uma nova droga por ano para dezenas delas¹⁷, contribuindo para que o número de apreensões chegasse ao dobro em relação ao ano anterior¹⁴. Nesse período deve-se destacar o surgimento do carfentanil para o mercado ilícito, um opioide sintético utilizado como anestésico de animais de grande porte, como o elefante, e cerca de cem vezes mais potente que o próprio fentanil¹⁹. Além dele, o furanilfentanil, o acrilfentanil, o p-fluoroisobutirfentanil, o 3-metilfentanil, o tetrahydrofuranilfentanil e o valerilfentanil também surgiram como os principais responsáveis pelo aumento de overdoses naquele ano¹⁸. Em 2017, dentre os NPFs que surgiram, o metoxiacetilfentanil e o ciclopropilfentanil foram os que mais contribuíram para a epidemia¹⁸, sendo que aproximadamente 33% das mortes por overdose naquele ano tiveram algum opioide envolvido²⁰. Além disso, o número de

overdose aumentou dez vezes de 2013 a 2017 nos EUA⁴. O acetilfentanil foi o principal análogo do fentanil que surgiu em 2018²⁰, e comparando as mortes por fentanil entre 2016 e 2018, observou-se um aumento de 25%²⁰.

Não é só os EUA que sofrem com a epidemia, os NPFs também são encontrados com frequência no Canadá e na Europa^{8,21}. Das 1.019 mortes relacionadas ao fentanil entre 2009 e 2014 no Canadá, mais da metade ocorreu em 2013 e 2014, justamente no período em que a epidemia se iniciou⁸. Na Europa, estima-se que 3,5% das mortes de pessoas entre 19 e 39 anos estão relacionadas ao uso de algum opioide²¹. Diversos países europeus já tiveram ao menos um surto de overdose relacionado aos NPFs, estando entre eles a Estônia, Finlândia, Alemanha, Grécia, Itália, Suécia, Reino Unido e República Tcheca^{7,22}. Na Estônia, por exemplo, o fentanil é o opioide mais utilizado entre os usuários de drogas, ultrapassando até mesmo a heroína²². Essa relação também se repete na Finlândia e na República Tcheca, onde os opioides sintéticos são os maiores responsáveis pelas internações de usuários em clínicas de reabilitação²¹.

No início da epidemia, os NPFs geralmente eram encontrados misturados com heroína ou comprimidos prescritos falsificados, por também serem opioides e atingirem o mesmo público¹. Entretanto, com o passar do tempo, além de serem encontrados isolados, também foram identificados em misturas com cocaína, maconha⁹, MDMA¹⁵ e benzodiazepínicos⁷. Isso agravou ainda mais a epidemia, já que a ingestão de alguns miligramas de um NPF pode ser fatal para uma pessoa sem tolerância ao opioide, como é o caso dos usuários de outras drogas⁹. Além disso, os NPFs podem ser encontrados em forma de pó, spray nasal, líquidos e em comprimidos⁸.

Produção e tráfico dos NPFs

Até o final da década de 80, o método utilizado para a produção dos NPFs era o mesmo desenvolvido por Paul Janssen quando sintetizou o fentanil pela primeira vez. Entretanto, esse método era complexo e sofisticado tecnicamente por não utilizar um precursor de fácil obtenção, possibilitando apenas a produção de uma quantidade limitada de NPF. Com a publicação de uma rota alternativa de produção, no início dos anos 80, a síntese de NPF foi facilitada. O método Siegfried utilizava apenas um precursor (NPP ou ANPP), não necessitava de equipamentos sofisticados e nem elevado conhecimento técnico em química. Assim, a produção em larga escala passou a ser viável, gerando lucro para os produtores ilegais⁵.

Com o passar do tempo, o controle do NPP e ANPP foi intensificado pela ONU (Organização das Nações Unidas) e pela China. Essa ação forçou o desenvolvimento de novas rotas sintéticas utilizando outros precursores como o benzilfentanil e o 4-anilidopiperidina²³.

Estima-se que uma pílula contendo fentanil é vendida por 10 a 20 dólares nas ruas, sendo que um quilo de um NPF puro pode ser comprado por 2.000 a 4.000 dólares pelos traficantes. Devido à quantidade da droga em cada pílula ser muito pequena, um quilo de NPF pode gerar de 5 a 20 milhões de dólares em vendas, se tornando um negócio muito rentável^{1,14}.

A regulação e o monitoramento das indústrias químicas e farmacêuticas da China são difíceis de fiscalizar. Por esse fato, esse país é o principal responsável pelo fornecimento dos opioides sintéticos e seus precursores para os Estados Unidos e a Europa¹⁴. Quando o destino é o mercado norteamericano, a droga é majoritariamente enviada ao México, onde é sintetizada, misturada com a heroína, transformada em pílulas ou apenas distribuída através da fronteira sudoeste dos Estados Unidos. Esse transporte é feito pelos cartéis e distribuidores mexicanos ou até mesmo pelos correios. Em menor quantidade, a droga também é enviada ao Canadá, onde entra no mercado ilegal local, chegando até os Estados Unidos pela fronteira nordeste¹.

O tráfico para a Europa, além do fornecimento chinês, conta com a produção ilegal em países vizinhos da União Europeia como a Rússia, Belarus e a Ucrânia, onde a droga é posteriormente transportada para todo o continente²¹. Além disso, uma segunda fonte de obtenção desses opioides é o desvio de fármacos contendo o fentanil de fornecedores regularizados²². Outros países como Alemanha, Japão¹⁵, Bulgária, Grécia, Portugal e Eslováquia também já foram reportados como produtores e distribuidores de NPF²².

Outro fator que contribui para o rápido aparecimento dos NPFs é a internet, que com o seu mecanismo global de vendas, dificulta a regulação das novas drogas, propagando-as para todo o mundo¹⁴. A internet proporciona uma facilidade na disponibilidade e no acesso às drogas de abuso, além de possibilitar pequenos e grandes distribuidores a aumentarem seus lucros com as vendas online. Tanto a internet normal (*surface web*), quanto a *deep web* podem ser utilizadas para as compras de drogas e de precursores em quantidade para uso pessoal ou para o tráfico. Além disso, ela possibilita os meios mais variados de pagamento, abrangendo desde o uso de cartão de crédito e transferências bancárias, até o Western Union, PayPal e criptomoedas¹.

Contenção das Novas Substâncias Psicoativas no Brasil

O Brasil, assim como o mundo todo, também foi afetado pelas Novas Substâncias Psicoativas. Nos últimos anos, centenas de NPS foram identificadas pela Polícia Federal²⁴. Entretanto, diferente do que se vê nos Estados Unidos e na Europa, as substâncias mais identificadas no Brasil são pertencentes às classes das catinonas sintéticas, das feniletilaminas e dos canabinoides sintéticos, nessa ordem. Os NPFs, apesar de representarem menos de 1% das novas substâncias identificadas, tiveram dois análogos, o fentanil e o furanilfentanil, encontrados em 5 estados brasileiros, sendo eles, Acre, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Espírito Santo²⁴ e São Paulo²⁵.

A Lei nº 11.343/2006, também conhecida como Lei de Drogas, é a lei que institui o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas (SISNAD) e, entre outras medidas, estabelece normas para repressão à produção ilegal e ao tráfico ilícito de drogas, além de definir os crimes envolvendo o uso irregular de alguma substância no Brasil. Para que uma substância possa ser enquadrada em algum crime estabelecido por essa lei, é necessário que ela conste na lista da Portaria SVS/MS nº 344/98 ou em suas atualizações, função essa, que é desenvolvida pela Anvisa, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC)²⁴.

De acordo com essa Lei, as drogas ilícitas são entendidas como substâncias entorpecentes, psicotrópicas, precursoras e outras sob controle especial dessa Portaria. Assim, as novas substâncias psicoativas e seus precursores estão sujeitos às mesmas sanções previstas para as drogas já tradicionais, como a maconha e a cocaína²⁶.

Os opioides sintéticos são controlados nominalmente, estando, o fentanil, seus análogos e precursores, presentes em três listas da Portaria SVS/MS nº 344/98. Na Lista A1, referente às substâncias entorpecentes sujeitas a notificação de receita “A”, estão presentes o alfentanil, fentanil, remifentanil e o sufentanil. Na Lista D1, contendo as substâncias precursoras de entorpecentes e/ou psicotrópicos sujeitas a receita médica sem retenção, estão presentes o ANPP e o NPP. Já na Lista F1, representando as substâncias entorpecentes de uso proscrito no Brasil, estão presentes o 3-metilfentanil, 3-metiltiofentanil, 4-fluoroisobutirfentanil, acetil-afa-metilfentanil, acetilfentanil, acrilioilfentanil, alfa-metilfentanil, alfa-metiltiofentanil, beta-hidroxi-3-metilfentanil, beta-hidroxifentanil, butirfentanil, carfentanil, ciclopropirfentanil, furanilfentanil, metoxiacetilfentanil, ocfentanil, orto-fluorofentanil, para-fluorobutirfentanil, para-fluorofentanil, tetrahidrofuranilfentanil e o tiofentanil²⁶.

Também cabe à Anvisa, representando o Ministério da Saúde, por meio do Decreto nº 5.912/2006, editar normas sobre limitação, fiscalização e controle da produção, e do comércio de drogas, assim como a avaliação do risco relacionado a essas substâncias, seus possíveis usos médicos, científicos e industriais²⁴. Com isso, a comunidade científica acaba esbarrando na legislação quando se trata de pesquisas utilizando alguma substância proscrita. Sendo assim, seria necessária uma autorização junto à Anvisa para que a universidade pudesse realizar estudos com essas substâncias, podendo consumir muito tempo, além de poder sofrer restrições de uso e quantidade disponível para pesquisa, dificultando o trabalho.

Utilização de métodos computacionais para o estudo dos NPS

Uma maneira de contornar os problemas burocráticos e legais para o estudo dessas substâncias é a utilização de métodos computacionais, também conhecidos como métodos *in silico*. Métodos *in silico* se baseiam em simulações e aproximações computacionais por meio de softwares, e podem ser empregados em um vasto campo científico, inclusive no estudo de substâncias proscritas que a universidade não tem autorização para trabalhar, sintetizar ou cultivar. Por meio desses métodos, podemos prever com certa confiança diversos parâmetros físico-químicos, toxicológicos e espectrais de um grande grupo de compostos em um curto período. Além disso, compostos que ainda não foram sintetizados podem ser estudados por esses métodos^{27,28}.

Os métodos *in silico* foram desenvolvidos na década de 70, e hoje, com o avanço da tecnologia, puderam ser aprimorados e agilizados, mostrando-se, mais do que nunca, uma importante ferramenta alternativa de estudo. Além de ser um método de baixo custo, também não necessita a utilização de animais em ensaios, a compra de reagentes e padrões analíticos, e o emprego de equipamentos e técnicas sofisticadas^{27,28}.

Entre as possibilidades de utilização desses métodos, convém destacar a obtenção da relação estrutura-atividade (SAR) de um novo composto, a afinidade de uma droga pelo seu receptor no sistema nervoso central, a obtenção de informações toxicológicas, como o LD50²⁹, ED50 e LogP, e metabólicas^{30,31}, além de simulações de espectros Infravermelho, Raman e RMN, e a determinação de energias eletrônicas e termodinâmicas por meio de cálculos quânticos^{32,33}.

II - Conclusão

Neste trabalho, foram utilizados métodos *in silico* para estudar opioides sintéticos a partir do fentanil. Com a ausência de dados sobre substâncias sintéticas, essa metodologia pode apresentar vantagens no que diz respeito à previsibilidade de propriedades e comportamentos de moléculas desconhecidas. Na primeira parte do trabalho, usamos um planejamento fatorial 2^4 para encontrar as melhores condições de cálculo. O tratamento escolhido por meio do planejamento fatorial foi o B3LYP, 6-311G**, LooseSCF e NormalOpt. Esse tratamento foi utilizado para otimizar todas as moléculas e obter seus respectivos espectros de infravermelho. Os resultados encontrados foram compatíveis com os resultados experimentais retirados da literatura. Para avaliar a resposta à variação da estrutura, usamos as técnicas quimiométricas de aprendizado não supervisionado, mais especificamente HCA e PCA. Ambas mostraram tendência de agrupamento para variação estrutural principalmente relacionada ao grupo de substituição em R1. O SIMCA confirmou corretamente os agrupamentos encontrados pelo HCA e PCA. Dessa forma, temos que os métodos *in silico* foram hábeis em discriminar os opioides sintéticos estudados de acordo com a variação estrutural, o que pode fornecer importante referência para a identificação dessas substâncias.

As interações dessas drogas com o alvo biológico também foram investigadas. Realizamos um procedimento de *docking* com três softwares diferentes, mais precisamente iGemdock, PyRx e GOLD. Os resultados de energia de ligação obtidos no programa PyRx foram considerados mais reprodutíveis, enquanto os resultados do iGemdock mostraram a melhor concordância com os dados encontrados em uma publicação recente. Fica claro que mais de um software deve ser utilizado para esse tipo de estudo, visto que houve consideráveis divergências entre as energias de ligações das moléculas estudadas pelos três softwares. Entretanto, os resultados das poses e interações entre as moléculas e os aminoácidos do receptor opioide foram satisfatórios, uma vez que muitas convergências foram encontradas entre os softwares PyRx e GOLD.

A previsão qualitativa dos metabólitos do fentanil e seus análogos pelo software Alttox foi satisfatória. Entretanto, é necessário um conhecimento prévio do grupo estrutural das moléculas em estudo, assim como as principais rotas metabólicas que este grupo estará sujeito. Dessa maneira, é possível filtrar e interpretar os dados previstos com maior eficácia.

Podemos dizer que os métodos *in silico* foram capazes de fornecer informações sobre o comportamento dessas drogas quanto à detecção e mecanismos de ação biológica relacionados ao receptor e aos metabólitos. Esses tipos de avaliações podem auxiliar no conhecimento de propriedades de substâncias sintéticas, levando a uma maior segurança no que diz respeito à interpretação das principais características desses compostos. Essa segurança pode auxiliar tanto em mecanismos de investigação quanto orientar tomadas de decisão em procedimentos de redução de danos e de saúde pública relacionados a essas substâncias.

III – Referências Bibliográficas

1. Armenian, P., Vo, K. T., Barr-Walker, J. & Lynch, K. L. Fentanyl, fentanyl analogs and novel synthetic opioids: A comprehensive review. *Neuropharmacology* **134**, 121–132 (2018).
2. Stanley, T. H. The fentanyl story. *J. Pain* **15**, 1215–1226 (2014).
3. Lee, D. *et al.* Illicit fentanyl-related fatalities in Florida: Toxicological findings. *J. Anal. Toxicol.* **40**, 588–594 (2016).
4. de Waal, P. W. *et al.* Molecular mechanisms of fentanyl mediated β -arrestin biased signaling. *PLOS Comput. Biol.* **16**, e1007394 (2020).
5. Suzuki, J. & El-Haddad, S. A review: Fentanyl and non-pharmaceutical fentanyls. *Drug Alcohol Depend.* **171**, 107–116 (2017).
6. Bagley, J. R. *et al.* Evolution of the 4anilidopiperidine class of opioid analgesics. *Med. Res. Rev.* **11**, 403–436 (1991).
7. Hill, R., Santhakumar, R., Dewey, W., Kelly, E. & Henderson, G. Fentanyl depression of respiration: Comparison with heroin and morphine. *Br. J. Pharmacol.* **177**, 254–266 (2020).
8. Zawilska, J. B. An expanding world of novel psychoactive substances: Opioids. *Front. Psychiatry* **8**, (2017).
9. Burns, S. M., Cunningham, C. W., Mercer, S. L. Dark Classics in Chemical Neuroscience: Fentanyl. *ACS Chem. Neurosci.* (2018).
10. Bick, M. J. *et al.* Computational design of environmental sensors for the potent opioid fentanyl. *Elife* **6**, 1–23 (2017).
11. Došen-Mićović, L. Molecular modeling of fentanyl analogs. *J. Serbian Chem. Soc.* **69**, 843–854 (2004).
12. Vucković, S. *et al.* Fentanyl analogs: structure-activity-relationship study. *Curr. Med. Chem.* **16**, 2468–74 (2009).
13. Henderson, G. L. Fentanyl-related deaths: Demographics, circumstances and

- toxicology of 112 cases. *J. Forensic Sci.* (1991).
14. Prekupec, M. P., Mansky, P. A. & Baumann, M. H. Misuse of Novel Synthetic Opioids: A Deadly New Trend. *J. Addict. Med.* **11**, 256–265 (2017).
 15. Lucyk, S. N. & Nelson, L. S. Novel Synthetic Opioids: An Opioid Epidemic Within an Opioid Epidemic. *Ann. Emerg. Med.* **69**, 91–93 (2017).
 16. Rudd, R. A., Aleshire, N., Zibbell, J. E. & Gladden, R. M. Increases in Drug and Opioid Overdose Deaths — United States, 2000–2014. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **64**, 1378–1382 (2015).
 17. Moody, M. T., Diaz, S., Shah, P., Papsun, D. & Logan, B. K. Analysis of fentanyl analogs and novel synthetic opioids in blood, serum/plasma, and urine in forensic casework. *Drug Test. Anal.* 1–10 (2018). doi:10.1002/dta.2393
 18. Fogarty, M. F., Papsun, D. M. & Logan, B. K. Analysis of Fentanyl and 18 Novel Fentanyl Analogs and Metabolites by LC-MS-MS, and report of Fatalities Associated with Methoxyacetylfentanyl and Cyclopropylfentanyl. *J. Anal. Toxicol.* **42**, 592–604 (2018).
 19. Casale, J. F., Mallette, J. R. & Guest, E. M. Analysis of illicit carfentanil: Emergence of the death dragon. *Forensic Chem.* **3**, 74–80 (2017).
 20. O'Donnell, J., Gladden, R. M., Goldberger, B. A., Mattson, C. L. & Kariisa, M. Notes from the Field: Opioid-Involved Overdose Deaths with Fentanyl or Fentanyl Analogs Detected — 28 States and the District of Columbia, July 2016–December 2018. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **69**, 271–273 (2020).
 21. Guerrieri, D., Rapp, E., Roman, M., Thelander, G. & Kronstrand, R. Acrylfentanyl: Another new psychoactive drug with fatal consequences. *Forensic Sci. Int.* **277**, e21–e29 (2017).
 22. Mounteney, J., Giraudon, I., Denissov, G. & Griffiths, P. Fentanyls: Are we missing the signs? Highly potent and on the rise in Europe. *Int. J. Drug Policy* **26**, 626–631 (2015).
 23. Drug Enforcement Administration. Designation of Benzylfentanyl and 4-Anilinopiperidine, Precursor Chemicals Used in the Illicit Manufacture of Fentanyl, as List I Chemicals. *Diversion Control Division* (2020). Available at: https://www.deadiversion.usdoj.gov/fed_regs/rules/2020/fr0415.htm. (Accessed: 4th November 2020)
 24. Macêdo, M. L. S., Lopes, L. S., Giudice, G. H., Souza, R. M. *GRUPO DE TRABALHO PARA CLASSIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS CONTROLADAS*. (2019).
 25. United Nations Office on Drugs and Crime. Fentanyl and its analogues - 50 years on. 12 (2017).
 26. National Agency of Sanitary Vigilance. RDC n° 227. 76–83 (2018).
 27. Amberg, A. *Drug Discovery and Evaluation: Safety and Pharmacokinetic Assays*. (Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013). doi:10.1007/978-3-642-25240-2
 28. Idakwo, G. *et al.* A review on machine learning methods for in silico toxicity prediction. *J. Environ. Sci. Heal. Part C* **36**, 169–191 (2018).

29. Rodrigues, C. H. P. & Bruni, A. T. In silico toxicity as a tool for harm reduction: A study of new psychoactive amphetamines and cathinones in the context of criminal science. *Sci. Justice* **59**, 234–247 (2019).
30. de Ruyck, J., Brysbaert, G., Blossey, R. & Lensink, M. F. Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry* **9**, 1 (2016).
31. Kazmi, S. R., Jun, R., Yu, M. S., Jung, C. & Na, D. In silico approaches and tools for the prediction of drug metabolism and fate: A review. *Computers in Biology and Medicine* **106**, 54–64 (2019).
32. de Castro, J. S., Rodrigues, C. H. P. & Bruni, A. T. In Silico Infrared Characterization of Synthetic Cannabinoids by Quantum Chemistry and Chemometrics. *J. Chem. Inf. Model.* **60**, 2100–2114 (2020).
33. Bruni, A. T., de Carvalho, P. O. M., Rodrigues, C. H. P. & Leite, V. B. P. In silico methods in forensic science: Quantum chemistry and multivariate analysis applied to infrared spectra of new amphetamine- and cathinone-derived psychoactive substances. *Forensic Chem.* **9**, 21–34 (2018).
34. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA). Legal Approaches To Controlling New Psychoactive Substances - updated 2016. *Perspect. Drugs* 4 (2016).
35. Abdulrahim, D. & Bowden-jones, O. *The misuse of synthetic opioids: harms and clinical management of fentanyl, fentanyl analogues and other novel synthetics opioids*. (2018).
36. Jannetto, P. J. *et al.* The fentanyl epidemic and evolution of fentanyl analogs in the United States and the European Union. *Clin. Chem.* **65**, 242–253 (2019).
37. Green, T. C. *et al.* An assessment of the limits of detection, sensitivity and specificity of three devices for public health-based drug checking of fentanyl in street-acquired samples. *Int. J. Drug Policy* **77**, 102661 (2020).
38. (EMCDDA), E. M. C. for D. and D. A. *European Drug Report. European Union Publications Office* (2019). doi:10.1097/JSM.0b013e31802b4fda
39. Young, D. C. *CHEMISTRY COMPUTATIONAL CHEMISTRY A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems*. **9**, (John Wiley & Sons, Ltd, 2001).
40. Lewars, E. G. *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics*. (Springer, 2011). doi:10.1007/978-90-481-3862-3
41. Cramer, C. J. *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*. (John Wiley & Sons, Ltd, 2004).
42. González, M. A. Force fields and molecular dynamics simulations. *Collect. SFN* **12**, 169–200 (2011).
43. Casewit, C. J., Colwell, K. S. & Rappé, A. K. Application of a Universal Force Field to Main Group Compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 10046–10053 (1992).
44. Bjornsson, R.; Kraemer, T.; Sparta, M.; Schapiro, I.; Berilone, J.; Rose, B.

ORCA Input Library.

45. Jensen, F. *Introduction to computational chemistry*. (Wiley, 2017).
46. Thiel, W. Semiempirical quantum-chemical methods. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **4**, 145–157 (2014).
47. Perdew, J. P., Burke, K. & Ernzerhof, M. *Generalized Gradient Approximation Made Simple*. (1996).
48. Lee, C., Yang, W. & Parr, R. G. *Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density*. **37**,
49. Becke, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* **98**, 5648–5652 (1993).
50. Dunning, T. H. Gaussian basis functions for use in molecular calculations. III. Contraction of (10s6p) atomic basis sets for the first-row atoms. *J. Chem. Phys.* (1971). doi:10.1063/1.1676139
51. Krishnan, R., Binkley, J. S., Seeger, R. & Pople, J. A. Selfconsistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *Cit. J. Chem. Phys* **72**, 650 (1980).
52. Frisch, M. J., Pople, J. A. & Binkley, J. S. Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary functions for Gaussian basis sets. *J. Chem. Phys.* (1984). doi:10.1063/1.447079
53. Miller, J. N. & Miller, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry Sixth edition*.
54. Fukuda, I. M., Pinto, C. F. F., Moreira, C. D. S., Saviano, A. M. & Lourenço, F. R. Design of experiments (DoE) applied to pharmaceutical and analytical quality by design (QbD). *Brazilian J. Pharm. Sci.* **54**, 1–16 (2018).
55. Durakovic, B. Design of experiments application, concepts, examples: State of the art. *Period. Eng. Nat. Sci.* **5**, 421–439 (2017).
56. Root Mean Square Deviation (RMSD). *Wiley StatsRef Stat. Ref. Online* (2014). doi:10.1002/9781118445112.stat00728
57. Stahle, L., Wold, S. Analysis of Variance (ANOVA). *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **6**, 259–272 (1989).
58. Wilkinson, L. Revising the Pareto Chart Statistical Computing and Graphics Revising the Pareto Chart. (2012). doi:10.1198/000313006X152243
59. Silveira, Z. de C. Análise Estatística e Otimização de Parâmetros de Projeto em Componentes de Sistemas Mecânicos. 201 (2003).
60. Varmuza, K. & Filzmoser, P. *Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics*. (Taylor & Francis Group, 2009).
61. Prieto-Martínez, F. D., Arciniega, M. & Medina-Franco, J. L. Acoplamiento Molecular: Avances Recientes y Retos. *TIP Rev. Espec. en Ciencias Químico-Biológicas* **21**, 0–23 (2018).

62. Tu, M., Cheng, S., Lu, W. & Du, M. Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **105**, 7–17 (2018).
63. Chaudhary, K. K. & Mishra, N. A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery. *JSM Chem* **4**, 1029 (2016).
64. Berman, H. M. *et al.* The Protein Data Bank Helen. *Nucleic Acids Res.* (2000). doi:10.1093/nar/28.1.235
65. Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M. & Cui, M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Curr. Comput. Aided-Drug Des.* **7**, 146–157 (2012).
66. Hsu, K., Chen, Y., Lin, S. & Yang, J. iGEMDOCK : a graphical environment of enhancing GEMDOCK using pharmacological interactions and post-screening analysis. **12**, 1–11 (2011).
67. Jones, G., Willet, P., Glen, R. C., Leach, A. R. & Taylor, R. Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking. *J. Molecular Biol.* (1997).
68. Dallakyan, S. & Olson, A. J. Chapter 19 Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. **1263**, 243–250 (2015).
69. CCDC. CSD Web interface - intuitive, cross-platform, web-based access to CSD data. (2017).
70. Trott, O.; Olson, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. **31**, 455–461 (2011).
71. Nocedal, J. & Wright, S. *Numerical optimization*. (Springer Verlag, 1999).
72. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, *et al.* *Molecular Cell Biology*. (2000).
73. Anslyn, E. V., Dougherty, D. A. *Modern Physical Organic Chemistry*. (2006).
74. Comer, S. D. & Cahill, C. M. Fentanyl: Receptor pharmacology, abuse potential, and implications for treatment. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **106**, 49–57 (2019).
75. United Nations Office on Drugs and Crime. Recommended methods for the Identification and Analysis of Fentanyl and its Analogues in Biological Specimens. (2017).
76. Vardanya, R. . & Hrubby, V. . Future Prospects for Pharmaceutical Applications. *Future Med. Chem.* **6**, 385–412 (2014).
77. Bowery, N. G. in *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* 1–5 (Elsevier Inc., 2007). doi:10.1016/B978-008055232-3.61745-3
78. Dhaliwal, A. & Gupta, M. *Physiology, Opioid Receptor*. *StatPearls* (StatPearls Publishing, 2019).
79. Dosen-Micovic, L. Molecular modelling of fentanyl analogs. *J. Serbian Chem.*

- Soc.* **69**, 843–854 (2004).
80. Dosen-Micovic, L., Ivanovic, M. & Micovic, V. Steric interactions and the activity of fentanyl analogs at the μ -opioid receptor. *Bioorganic Med. Chem.* **14**, 2887–2895 (2006).
 81. Jarończyk, M., Lipiński, P. F. J., Dobrowolski, J. C. & Sadlej, J. The FMO analysis of the molecular interaction of fentanyl derivatives with the μ -opioid receptor. *Chem. Pap.* **71**, 1429–1443 (2017).
 82. Pichini, S., Zaami, S., Pacifici, R., Tagliabracci, A. & Busardò, F. P. *Editorial: The challenge posed by new synthetic opioids: Pharmacology and toxicology. Frontiers in Pharmacology* **10**, (2019).
 83. Ogawa, N., Nagase, H., Endo, T., Loftsson, T. & Ueda, H. Crystal structure of fentanyl base. *X-ray Struct. Anal. Online* **25**, 83–84 (2009).
 84. Groom, C. R., Bruno, I. J., Lightfoot, M. P. & Ward, S. C. The Cambridge Structural Database. 171–179 (2016). doi:10.1107/S2052520616003954
 85. Rappé, A. K., Casewit, C. J., Colwell, K. S., Goddard, W. A. & Skiff, W. M. UFF, a Full Periodic Table Force Field for Molecular Mechanics and Molecular Dynamics Simulations. *J. Am. Chem. Soc.* (1992). doi:10.1021/ja00051a040
 86. Hanwell, M. D. *et al.* Avogadro : an advanced semantic chemical editor , visualization , and analysis platform. 1–17 (2012).
 87. StatSoft. Inc. STATISTICA. (2004).
 88. SWGDRUG. Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs. Available at: <http://www.swgdrug.org/ir.htm>. (Accessed: 3rd July 2019)
 89. Bio-Rad Laboratories, I. S. Spectrabase. 2019 (2019). Available at: <http://spectrabase.com/>. (Accessed: 3rd July 2019)
 90. Kohn, W., Becke, A. D. & Parr, R. G. Density functional theory of electronic structure. *J. Phys. Chem.* (1996). doi:10.1021/jp960669l
 91. Kossmann, S. & Neese, F. Efficient structure optimization with second-order many-body perturbation theory: The RIJCOSX-MP2 method. *J. Chem. Theory Comput.* **6**, 2325–2338 (2010).
 92. Grimme, S., Ehrlich, S. & Goerigk, L. Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory. *J. Comput. Chem.* (2011). doi:10.1002/jcc.21759
 93. Neese, F. The ORCA program system. **2**, 73–78 (2012).
 94. Humphrey, W., Dalke, A. & Schulten, K. VMD : Visual Molecular Dynamics. **7855**, 33–38 (1996).
 95. IR Spectrum Table & Chart | Sigma-Aldrich. Available at: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/ir-spectrum-table.html>. (Accessed: 13th August 2020)
 96. Infrared Spectroscopy Absorption Table - Chemistry LibreTexts. Available at: https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Ancillary_Materials/Reference/Referenc

- e_Tables/Spectroscopic_Parameters/Infrared_Spectroscopy_Absorption_Table. (Accessed: 13th August 2020)
97. Huang, W. *et al.* Structural insights into mu-opioid receptor activation. *Nature* **524**, 315–321 (2015).
 98. DeLano, W. L. PyMOL. (2006).
 99. Dassault Systèmes BIOVIA. Discovery Studio Visualizer. (2016).
 100. Taeger, K. f Human Cerebral Extraction. 1559–1567 (2000).
 101. Orłowski, P., Chappell, M., Park, C. S., Grau, V., Payne, S. Modelling of pH dynamics in brain cells after stroke. *Interface Focus* **1**, 408–416 (2011).
 102. O’Boyle, N. M. *et al.* Open Babel: An Open chemical toolbox. *J. Cheminform.* **3**, (2011).
 103. Matos dos Santos, C. E. Altos Ltd.
 104. NIST. Computational Chemistry Comparison and Benchmark DataBase. (2018). Available at: <https://cccbdb.nist.gov/vibnotes.asp>. (Accessed: 11th July 2019)
 105. Bio-Rad Laboratories, I. S. SpectraBase Compound ID=2KmHuCaQAx. Available at: http://spectrabase.com/spectrum/CCvkKc7ex9K?a=SPECTRUM_CCvkKc7ex9K. (Accessed: 3rd July 2019)
 106. Asadi, Z. *et al.* A structural study of fentanyl by DFT calculations, NMR and IR spectroscopy. *J. Mol. Struct.* **1128**, 552–562 (2017).
 107. Wiley SpectraBase. Fentanyl - ATR-IR Spectrum - SpectraBase Compound ID=2KrnHuCaQAx SpectraBase Spectrum ID=CCvkKc7ex9K. Available at: <https://spectrabase.com/spectrum/CCvkKc7ex9K>. (Accessed: 11th September 2020)
 108. Wiley SpectraBase. Ocfentanil - ATR-IR Spectrum - SpectraBase Compound ID=3IIACgleahh SpectraBase Spectrum ID=Jb335Fopp3A. Available at: <https://spectrabase.com/spectrum/Jb335Fopp3A>. (Accessed: 11th September 2020)
 109. Wiley SpectraBase. Alfentanil - ATR-IR Spectrum - SpectraBase Compound ID=D9PZyuqPebb SpectraBase Spectrum ID=LeD48rAOdj. Available at: <https://spectrabase.com/spectrum/LeD48rAOdj>. (Accessed: 11th September 2020)
 110. Wiley SpectraBase. Valeryl fentanyl - ATR-IR Spectrum - SpectraBase Compound ID=CDfFiee1p7B SpectraBase Spectrum ID=IniJYfbTZQ9. Available at: <https://spectrabase.com/spectrum/IniJYfbTZQ9>. (Accessed: 11th September 2020)
 111. Wiley SpectraBase. Furanyl fentanyl - ATR-IR Spectrum - SpectraBase Compound ID=W1zLspFBWJ SpectraBase Spectrum ID=ECHT0UmsHHH. Available at: <https://spectrabase.com/spectrum/ECHT0UmsHHH>. (Accessed: 11th September 2020)
 112. Wiley SpectraBase. Acetyl fentanyl - ATR-IR Spectrum - SpectraBase

Compound ID=DeCFvKUrAr SpectraBase Spectrum ID=7XjZ89qKvBd.
Available at: <https://spectrabase.com/spectrum/7XjZ89qKvBd>. (Accessed: 11th September 2020)

113. Wiley SpectraBase. Butyryl fentanyl - ATR-IR Spectrum - SpectraBase
Compound ID=9EPRnsEGRcY SpectraBase Spectrum ID=JraC6aucIpe.
Available at: <https://spectrabase.com/spectrum/JraC6aucIpe>. (Accessed: 11th September 2020)