



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OPSDRU



Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați
Școala doctorală de Inginerie



TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

METODE MULTIVARIATE PENTRU IDENTIFICAREA AMFETAMINELOR CU AJUTORUL UNUI SISTEM IR PORTABIL

Doctorand,
Ștefănuț CIOCHINĂ

Conducător științific,
prof. univ. dr. fiz. Mirela PRAISLER

Seria I4: Inginerie industrială Nr. 5

GALAȚI

2013

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

Școala doctorală de Inginerie



TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

METODE MULTIVARIATE PENTRU IDENTIFICAREA AMFETAMINELOR CU AJUTORUL UNUI SISTEM IR PORTABIL

Doctorand,

Ștefănuț CIOCHINĂ

Conducător științific,

Prof univ.dr.fiz. Mirela PRAISLER

Referenți științifici

Prof univ.dr.ing. Remus ZĂGAN

Prof univ.dr.ing. Gheorghe NAGÎȚ

Prof. univ. dr. ing. Luminița MORARU

Seria I4: Inginerie industrială Nr. 5

GALAȚI

2013

Seriile tezelor de doctorat sustinute public în UDJG începând cu 1 octombrie 2013 sunt:

Domeniul **ȘTIINȚE INGINEREȘTI**

Seria I 1: **Biotehnologii**

Seria I 2: **Calculatoare și tehnologia informației**

Seria I 3: **Inginerie electrică**

Seria I 4: **Inginerie industrială**

Seria I 5: **Ingineria materialelor**

Seria I 6: **Inginerie mecanică**

Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**

Seria I 8: **Ingineria sistemelor**

Domeniul **ȘTIINȚE ECONOMICE**

Seria E 1: **Economie**

Seria E 2: **Management**

Domeniul **ȘTIINȚE UMANISTE**

Seria U 1: **Filologie-Engleză**

Seria U 2: **Filologie-Română**

Seria U 3: **Istorie**

Cuvânt înainte

Finalizarea acestei teze de doctorat reprezintă momentul în care se încheie un ciclu important în formarea mea profesională și prezintă rezultatele obținute în cei trei ani de studii în cadrul școlii doctorale. Rezultate ce nu ar fi fost posibile fără sprijinul unor oameni minunați care mi-au oferit tot sprijinul în finalizarea cercetării.

Mulțumesc doamnei prof. dr. Mirela Praisler în calitate de coordonator științific, pentru efortul depus, răbdarea de care a dat dovadă în îndrumarea permanentă și nu în ultimul rând pentru încrederea pe care mi-a acordat-o în elaborarea și finalizarea prezentei teze de doctorat.

Mulțumesc doamnelor prof. dr. Luminița Moraru, prof. dr. Carmina Mușat și domnilor prof. dr. Constantin Gheorghieș și prof. dr. Lucian Georgescu de la Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați pentru sprijinul acordat și analizele obiective făcute în cadrul sesiunilor de susținere a referatelor în cadrul școlii doctorale.

Mulțumesc domnilor Sandro Mengali și Domenico Luciani de la Electro – Optics Research Center (Consorzio CREO), L' Aquila, Italia și domnilor Stefano Zampoli și Giancarlo Cardinali de la Institute for Microelectronics and Microsystems (CNR – IMM), Bologna, Italia pentru ajutorul acordat în finalizarea și optimizarea sistemului expert dezvoltat în această teză.

Mulțumesc cadrelor didactice din cadrul Facultății de Științe și Mediu pentru colaborarea excelentă și sprijinul acordat.

Studiile experimentale și dezvoltarea sistemului expert utilizat în identificarea/recunoașterea / detecția automată a principalilor analogi ai amfetaminei au fost efectuate în:

- Centrul de Analize Fizico – Chimice, Morfo – Funcționale și Chemometrie, Facultatea de Științe și Mediu, Galați.
- CNR - Istituto per la Microelectronica e i Microsistemi, Bologna, Italia.

Studiile experimentale descrise în această lucrare au fost efectuate în cadrul proiectului finanțat de Uniunea Europeană FP7 – SEC – 2009 – 242309 DIRAC.

Elaborarea acestei lucrări a fost realizată cu suportul financiar al proiectului SOP HRD – TOP ACADEMIC 76822. Autorul este recunoscător pentru sprijinul financiar acordat de Uniunea Europeană, Guvernul României și Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați.

Galați, Octombrie 2013

mat. Ștefănuț Ciochină

CUPRINS

Introducere	7
Capitolul I	
Aspecte teoretice ale metodelor de analiză fizico-chimice utilizate în caracterizarea și identificarea amfetaminelor ilicite	10
Capitolul II	
Metode multivariate folosite pentru detecția și identificarea principalilor analogi și precursori ai amfetaminelor	14
Capitolul III	
Contribuții proprii obținute în detecția amfetaminelor și principalilor precursori ai acestora prin metode chemometrice de recunoaștere a formelor	17
III. 1. Introducere	17
III. 2. Baza de date spectrală GC-FTIR	17
III. 3. Studiu de fezabilitate privind detecția și discriminarea amfetaminelor pe baza spectrelor GC-FTIR vibraționale	18
III. 4. Optimizarea detecției amfetaminelor bazată pe analiza componentelor principale	19
III. 5. Optimizarea detecției multivariate a amfetaminelor prin preprocesarea spectrelor GC-FTIR cu amplificatorul selectiv w^2	22
III. 6. Studiu de fezabilitate privind detecția amfetaminelor prin PCA aplicată spectrelor procesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$	24
III. 7. Evaluarea eficienței detecției amfetaminelor prin analiza clusterelor	27
III. 8. Indicatori de geometrie analitică aplicați pentru evaluarea clasificării PCA a amfetaminelor ilicite	28
III. 9. Detecția amfetaminelor ilegale bazată pe analiza componentelor principale și analiza discriminantă	29
III. 10. Concluzii	30
Capitolul IV	
Metode multivariate utilizate în detecția și identificarea amfetaminelor ilicite pe baza absorbțiilor înregistrate în domeniul spectral de emisie al laserului QCL UT8	33
IV. 1. Optimizarea detecției amfetaminelor utilizând preprocesarea spectrelor cu amplificatorul selectiv wME	33
IV. 2. Schema logică a modulelor de identificare / detecție a amfetaminelor ilicite cu ajutorul unui instrument IR portabil în domeniul de emisie al laserului QCL UT8	34
IV. 3. Rezultatele obținute de sistemul expert utilizând absorbțiile obținute cu ajutorul unui instrument IR portabil în fereastra spectrală UT8	36
IV. 3. 1. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru benzil metil cetonă	37
IV. 3. 2. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru benzaldehidă	37
IV. 3. 3. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru efedrină	38
IV. 3. 4. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru isosafrol	38
IV. 3. 5. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru piperonal	39
IV. 3. 6. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru safrol	39
IV. 3. 7. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru analogii metamfetaminei	40
IV. 3. 8. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru piperonil metil cetonă	41
IV. 3. 9. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru <i>street sample</i>	41

IV. 4. Concluzii	42
Capitolul V	
Metode multivariate utilizate în detecția și identificarea amfetaminelor ilicite pe baza absorbțiilor înregistrate în domeniul spectral de emisie al laserului QCL UT7	44
V. 1. Optimizarea detecției amfetaminelor utilizând preprocesarea spectrelor cu funcția <i>wMT</i>	44
V. 2. Schema logică a modulelor de identificare / detecție a amfetaminelor ilicite cu ajutorul unui instrument IR portabil portabil în domeniul de emisie al laserului QCL UT7	46
V. 3. Rezultatele obținute de sistemul expert utilizând spectre obținute cu ajutorul unui instrument IR portabil în fereastra spectrală UT7	47
V. 3. 1. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru 4 – flor amfetamină	48
V. 3. 2. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru amfetamină	49
V. 3. 3. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru efedrină	49
V. 3. 4. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru 3,4-metilendioximetamfetamina (MDMA)	50
V. 3. 5. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru metamfetamină	51
V. 3. 6. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru piperonil metil cetonă	51
V. 3. 7. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru propiofenonă	52
V. 4. Concluzii	52
Capitolul VI	
Concluzii generale, contribuții originale și perspective viitoare de cercetare	54
VI. 1. Concluzii generale	54
VI. 2. Contribuții originale	56
VI. 3. Perspective viitoare de cercetare	57
Listă lucrări publicate și prezentate	57

Cuvinte cheie: Analiza componentelor principale, Analiza clusterelor, Analiza discriminant, Spectroscopia IR cu transformata Fourier, Amfetamine, External Cavity Quantum Cascade Laser

INTRODUCERE

Traficul și consumul ilicit de droguri reprezintă o problemă de amploare mondială. Acest fenomen generează efecte devastatoare nu doar din punct de vedere al afectării sănătății publice, dar subminează însăși dezvoltarea socială, alimentând corupția și crima organizată [1]. Încă din cele mai vechi timpuri, oamenii au avut tendința de a căuta noi senzații și provocări, asociindu-le cu rezolvarea problemelor de ordin social sau individual. În aceste condiții apare tentația consumului de droguri [2].

Pentru a ieși de sub incidența legii penale internaționale, rețelele de traficanti sintetizează în laboratoare clandestine noi compuși, care nu se regăsesc în lista substanțelor interzise sau controlate. Noii compuși sunt obținuți prin ușoare modificări a structurii moleculare a substanțelor „mamă”, prin adăugarea sau schimbarea unor substituenți din diferite poziții ale structurii de bază care însă nu reduc semnificativ efectul biologic / toxicitatea substanței inițiale. Sinteza, distribuția, deținerea sau consumul acestor noi analogi nu pot fi incriminate în țările în care legislația nu interzice și compușii cu structuri moleculare *similare* oricărei substanțe din lista compușilor interziși. Astfel, apariția noilor compuși analogi pune în dificultate specialiștii în toxicologie, care trebuie să descopere și să identifice noile structuri chimice. Acest efort analitic este supus și presiunii timpului, deoarece persoana descoperită cu astfel de substanțe nu poate fi reținută preventiv decât un timp foarte scurt înainte de a se formula acuzații concrete și oficiale. Din acest motiv în ultima decadă au fost făcute eforturi de armonizare și flexibilizare a legislației privind substanțele interzise / controlate. Concomitent, găsirea unor metode de automatizare a rezultatelor analitice legate de identificarea și detecția substanțelor similare celor incriminate a devenit o prioritate a statelor moderne.

Necesitatea cooperării internaționale în lupta pentru combaterea influenței traficului și consumului ilicit de droguri a impus perfectarea unor mecanisme internaționale care acționează nu numai în plan continental, dar și în plan intercontinental, adaptându-se, desigur, la rutele de trafic ale narcoticelor. Astfel, au fost înființate: Organizația Internațională de Poliție Criminală Interpol, Biroul ONU privind Drogurile și Criminalitatea, Comisia pentru Stupefiante ONU, Organul Internațional de Control al Stupefiantelor, Grupul Dublin, Centrul regional de informare și orientare pentru Asia Centrală [1,3,4]. La nivel național, cadrul legislativ al combaterii traficului și consumului de droguri în România s-a modernizat și armonizat, situându-se la nivelul celui existent în țările occidentale [5-11].

Una dintre tehnicile consacrate de identificare a acestor compuși este spectroscopia GC-FTIR. Spectrometrele de acest tip sunt conectate la o unitate de calcul, care permite procesarea unui spectru necunoscut pentru *identificarea* naturii probei analizate, adică pentru găsirea structurii moleculare (a numelui) a compusului analizat. Operația de identificare se realizează la ora actuală în mod curent folosind aplicațiile software ale calculatorului atașat. Astfel, se compară automat spectrul probei cu cele din baza de date spectrală din memoria calculatorului. Compararea automată are loc printr-un proces clasic de cautare într-o bibliotecă de date (eng. *library search*), calculând distanța Euclidiană dintre spectrul analizat și toate spectrele din baza de date.

În cazul în care proba analizată are aceeași structură moleculară cu una din probele cunoscute, a cărui spectru se află în baza de date, această procedură automatizată este pe cât de simplă, pe atât de eficientă: distanța Euclidiană dintre spectrul probei analizate și cel al probei identice din baza de date este practic nulă (va avea valoare foarte mică, o minimă diferență aparând între spectre datorită zgomotului spectral). Valoarea găsită este mult mai mică decât cea corespunzătoare distanței Euclidiene dintre spectrul substanței analizate și

următorul cel mai similar spectru. Astfel structura moleculară a probei analizate este identificată.

Acest proces nu este însă eficient atunci când în baza de date spectrală *nu există* spectrul substanței analizate. În acest caz identificarea nu mai poate fi realizată automat prin metoda descrisă. Mai mult decât atât, nici măcar detecția clasei de substanțe din care face parte compusul analizat nu poate fi realizată, pentru ca lista compușilor afișată conține în general substanțe relativ diferite. În acest caz, detecția și identificarea necesită corelarea rezultatelor cu alte tipuri de analize și o interpretare care nu poate fi realizată decât de personal înalt calificat.

Prezenta lucrare prezintă rezultatele obținute în încercarea de a obține metode automate de detecție și recunoaștere automată a amfetaminelor și a principalilor precursori a acestora prin analiza chemometrică multivariată a spectrelor GC-FTIR. S-a urmărit realizarea nu numai a unei detecții eficiente, dar și realizarea distincției între analogii amfetaminici în funcție de activitatea lor biologică și efectul toxic asociat (stimulante și/sau halucinogene). Capacitatea sistemului expert de a distinge între cele două clase de substanțe ilicite este foarte importantă: dacă amfetaminele stimulante au o toxicitate mai redusă, și pot fi folosite în anumite preparate farmaceutice legale (care se administrează numai sub control medical), amfetaminele halucinogene sunt complet prohibite.

Metodele de inteligență artificială propuse permit detecția automată a acestor compuși (precizarea clasei de compuși căreia îi aparține o substanță analizată necunoscută). Avantajele majore ale sistemului propus și dezvoltat în această teză sunt următoarele: a) automatizarea procesului de detecție permite cunoașterea clasei de substanțe căreia îi aparține substanța analizată într-un timp foarte scurt (secunde); b) sensibilitatea și selectivitatea sistemului sunt excelente; c) detecția astfel realizată canalizează analistul spre analize conexe bine definite și în acest mod se economisesc resurse analitice și umane importante; d) reducerea semnificativă a timpului necesar pentru comunicarea rezultatului către forțele de ordine specializate în combaterea traficului ilicit de droguri.

În fine, este important să menționăm că aplicațiile au fost realizate cu ajutorul unei platforme de calcul disponibilă comercial (*Matlab*). Metodele chemometrice au fost selectate astfel încât să necesite resurse computaționale minime, astfel încât să poată fi implementate pe unități de calcul obișnuite. Acest lucru este deosebit de important pentru a permite folosirea aplicației atât pentru spectrometre GC-FTIR clasice (fixe, de laborator), cât și, în special, pentru spectrometrele GC-FTIR mobile, la care miniaturizarea impune includerea unor unități / resurse de calcul cât mai reduse.

Teza de doctorat cu titlul: "Metode multivariate pentru identificarea amfetaminelor cu ajutorul unui sistem IR portabil" este structurată în șase capitole în care sunt prezentate noțiunile teoretice și contribuțiile proprii obținute în dezvoltarea și optimizarea sistemului expert pentru identificarea / detecția automată a amfetaminelor ilicite cu ajutorul unui spectrometru IR portabil. Lucrarea de față debutează cu o parte introductivă, care cuprinde descrierea problemei științifice și oportunitatea studierii acesteia precum și motivația și obiectivele cercetării identificării într-un mod automatizat a amfetaminelor ilicite cu ajutorul unui instrument IR portabil.

Capitolul I, Aspecte teoretice ale metodelor de analiză fizico-chimice utilizate în caracterizarea și identificarea amfetaminelor ilicite, conține noțiunile cu caracter teoretic ale principalei tehnici de analiză a spectrelor GC-FTIR a amfetaminelor stimulante și amfetaminelor halucinogene.

Capitolul II, Metode multivariate folosite pentru detecția și identificarea principalilor analogi și precursori ai amfetaminelor, prezintă principalele metode și tehnici chemometrice multivariate de analiză utilizate pentru identificarea / detecția analogilor și precursorilor de amfetamină.

Capitolul III, Contribuții proprii obținute în detecția amfetaminelor și principalilor precursori ai acestora prin metode chemometrice de recunoaștere a formelor, conține studii experimentale cu privire la detecția automată a principalelor amfetamine. Totodată, s-a analizat diferite metode de optimizare a metodelor de detecție a sistemului dezvoltat în scopul îmbunătățirii selectivității și sensibilității obținute în discriminarea claselor de compuși

analizați. De asemenea, trebuie menționat că metodele multivariate de detecție dezvoltate în acest capitol au la bază spectrele GC-FTIR măsurate între 4000 – 600 cm⁻¹.

Capitolul IV, Metode multivariate utilizate în detecția și identificarea amfetaminelor ilicite pe baza absorbțiilor înregistrate în domeniul spectral de emisie al laserului QCL UT8, conține studii experimentale ce descriu identificarea / detecția automată a amfetaminelor având la bază absorbțiile GC-FTIR măsurate în fereastra spectrală UT8. Totodată, acest capitol conține rezultatele obținute de sistemul expert dezvoltat în această fereastră în recunoașterea unor compuși necunoscuți a căror spectre au fost obținute cu ajutorul unui instrument IR portabil.

Capitolul V, Metode multivariate utilizate în detecția și identificarea amfetaminelor ilicite pe baza absorbțiilor înregistrate în domeniul spectral de emisie al laserului QCL UT7, cuprinde metode multivariate de detecție automată a amfetaminelor având la bază absorbțiile GC-FTIR înregistrate în fereastra spectrală UT7. De asemenea, acest capitol conține rezultatele obținute de sistemul expert dezvoltat în această fereastră în recunoașterea, în mod automat, a unor compuși necunoscuți a căror spectre au fost obținute cu ajutorul unui instrument IR portabil.

Capitolul VI, Concluzii generale, contribuții originale și perspective viitoare de cercetare, prezintă concluziile generale și contribuțiile originale aduse în dezvoltarea și optimizarea identificării / detecției automate a principalelor amfetamine ilicite. De asemenea, capitolul se încheie cu menționarea direcțiilor de aplicare și dezvoltare a rezultatelor obținute în cadrul acestei teze.

Analiza și identificarea drogurilor prezintă o importanță deosebită în lupta instituțiilor specializate cu laboratoarele *de bucătărie* care reușesc să producă și sintetizeze noi tipuri de droguri. Prin această lucrare am dorit să contribuim la efortul general privind progresul metodelor analitice ce pot fi aplicate pentru *detecția / identificarea / recunoașterea* cât mai rapidă și mai eficientă a substanțelor ilicite noi, similare amfetaminelor și a principalilor precursori a acestora. În plus, am dorit dezvoltarea unui sistem expert utilizat în detecția automată a amfetaminelor care să fie implementat pe instrumente portabile de detecție.

Scopul acestei cercetări a fost obținerea unui sistem expert care să realizeze detecția și identificarea automată a amfetaminelor ilicite și a principalilor precursori cu ajutorul spectrelor GC – FTIR și a metodelor chemometrice multivariate.

Investigația științifică a avut stabilite câteva obiective specifice, cum ar fi:

- 1) Prezentarea generală a principalelor tehnici și metode de analiză multivariată utilizate în caracterizarea și identificarea amfetaminelor întâlnite pe piața ilicită de droguri.
- 2) Dezvoltarea unei metode fezabile de detecție automată a amfetaminelor și a principalilor precursori cu ajutorul spectrelor GC-FTIR.
- 3) Recunoașterea automată a amfetaminelor în funcție de activitatea lor biologică și efectul toxic asociat (stimulant sau halucinogen).
- 4) Adaptarea sistemului expert pentru spectrometre GC-FTIR portabile și discriminarea eficientă a amfetaminelor stimulante față de efedrine.
- 5) Optimizarea sistemului expert și evaluarea rezultatelor obținute în recunoașterea compușilor necunoscuți cu instrumente IR portabile.

Bibliografie

- [1] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, *European drug report 2012*, Lisbon, Portugal, www.emcdda.europa.eu.
- [2] C. Țone, *Drogurile – tentații și pasiuni ucigașe*, Ed. Sitech, 2009, ISBN 978-606-530-106-1.
- [3] Europol. www.europol.europa.eu.
- [4] Interpol. www.interpol.int.
- [5] Jurnalul Oficial al Uniunii Europene, Strategia UE în materie de droguri (2013-2020) , 29.12.2012, ISSN 1997-1029.
- [6] Camera Deputaților. www.cdep.ro.
- [7] Resursa ta de drept, Drept online. www.dreptonline.ro

[8] Legea nr. 143/2000 privind combaterea traficului și consumului ilicit de droguri, cu modificările ulterioare, publicată în M. Of., partea I, nr. 362/03.08.2000.

[9] Legea nr. 522/2004 pentru modificarea și completarea Legii nr. 143/2000 privind combaterea traficului și consumului de droguri, publicată în M. Of., nr. 1155/07.12.2004.

[10] Agenția Națională Antidrog. www.anagov.ro.

[11] O.U.G. nr. 121/2006 privind regimul juridic al precursorilor de droguri, publicată în M. Of., nr. 1039/28.12.2006.

Capitolul I

ASPECTE TEORETICE ALE METODELOR DE ANALIZĂ FIZICO – CHIMICE UTILIZATE ÎN CARACTERIZAREA ȘI IDENTIFICAREA AMFETAMINELOR ILICITE

Spectroscopia în infraroșu prin transformata Fourier (FTIR) este o tehnică analitică caracterizată de o selectivitate deosebită, spectrul în infraroșu fiind considerat o „amprentă” tipică și unică a moleculelor [1,4]. Deoarece amfetaminele sunt substanțe volatile, cromatografia gazoasă cuplată cu spectrometria în infraroșu prin transformata Fourier (GC – FTIR) a devenit, pe lângă cromatografia gazoasă cuplată cu spectrometria de masă (GC-MS) tehnica cea mai folosită pentru identificarea acestora. Spectrele IR, ale principalilor analogi ai amfetaminelor, sunt foarte complexe, astfel, identificarea lor automată prin folosirea metodelor multivariate (recunoașterea formelor) constituie o alternativă fiabilă și din ce în ce mai folosită [5-8].

Spectroscopia FTIR studiază tehnicile și metodele de obținere a spectrelor de emisie sau de absorbție, cu descrierea și interpretarea acestora din punct de vedere chimico-fizic, ca rezultat al interacțiunii radiației electromagnetice cu structurile materiale [9-10]. În timpul în care radiația electromagnetică trece printr-un compus (solid, lichid sau gazos) la anumite frecvențe ale radiației sunt absorbite de moleculele substanței care conduc la vibrații moleculare [11-14].

S-a arătat că spectroscopia în infraroșu reprezintă o metodă instrumentală utilizată în analizele fizico-chimice calitative prin examinarea interacțiunii dintre radiația IR și vibrațiile moleculare din molecule, însoțite de modificarea momentului de dipol al moleculei. Astfel, spectroscopia IR, numită și spectroscopie vibrațională, poate detecta vibrațiile moleculare în majoritatea cazurilor în forma absorbției de energie de la fasciculul IR incident [15]. Spectroscopia vibrațională are o bază teoretică solidă, asigurată de mecanica cuantică și de numeroasele texte care tratează în detaliu acest subiect [16-20].

Interferometrul lui Michelson reprezintă componenta principală a celor mai moderne spectrometre în infraroșu cu transformata Fourier. În prezent, datorită dezvoltării tehnicilor informatice [22-27], interferometrul Michelson și-a îmbunătățit în mod considerabil calitatea și achiziția spectrelor în infraroșu [4]. Spectrometrele IR cu transformare Fourier au avantajul că întreg domeniul spectral este lăsat să intre în celulă și liniile de absorbție sunt sesizate interferometric. Schema unui interferometru Michelson este prezentată în figura I. 1.

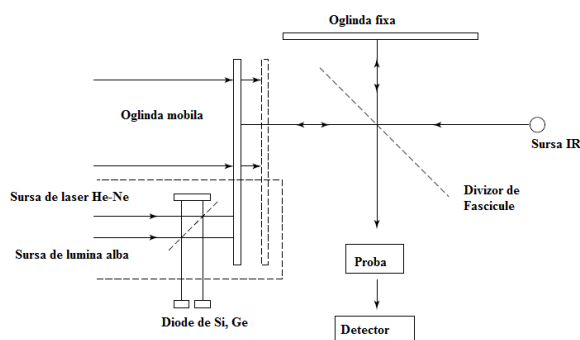


Figura I. 1. Schema opto-mecanică a unui interferometru Michelson [4].

Utilizarea spectrometrelor IR cu transformare Fourier au evidențiat o serie de avantaje în comparație cu spectrometrele clasice [1,30]. Aceste avantaje pot fi enumerate:

- Viteza de colectare a datelor: toate frecvențele sunt măsurate simultan, cele mai multe măsurători cu spectrometrele FTIR sunt realizate în câteva secunde.
- Sensibilitate mărită: sensibilitatea este îmbunătățită spectaculos folosind spectrometrele FTIR din mai multe motive. Detectoarele utilizate sunt mult mai sensibile și de aceea nivelul de zgomot din spectrul experimental este mult mai mic.

Cu toate că spectrometrele cu transformare Fourier au foarte multe avantaje și sunt utilizate la scara largă acestea nu sunt instrumente perfecte. În cele ce urmează vom enumera doar unele dintre dezavantajele utilizării spectrometrelor cu transformare Fourier [1].

- Nu pot detecta atomi sau ioni monoatomici.
- Nu pot detecta molecule alcatuite din doi atomi identici simetrici (N_2 sau O_2).
- Soluțiile apoase sunt foarte greu de analizat deoarece apa este un puternic absorbant IR.

Din punct de vedere matematic, dacă considerăm un semnal de modul integrabil $x(t)$ [31]:

$$\int_{-\infty}^{\infty} |x(t)| dt = M < \infty \quad (1.1)$$

Atunci, se poate defini transformata Fourier a semnalului $x(t)$, astfel definit, ca fiind semnalul $X(\omega)$ obținut cu expresia [25,31]:

$$X(\omega) = F\{x(t)\}(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \exp(-j\omega t) dt \quad (1.2)$$

Amfetaminele au în structura chimică un ciclu aromatic legat prin intermediul unei catene laterale alifatică cu unul sau doi atomi de carbon de o grupare amino [29]. Analogi ai amfetaminei au fost analizați cu ajutorul spectroscopiei GC – FTIR, observându-se avantajul pe care această metodă îl oferă în identificarea acestor compuși. De exemplu, analizând spectrele GC – FTIR al amfetaminei și metamfetaminei se observă existența a patru regiuni spectrale.

Prima regiune spectrală cuprinde absorbțiile caracteristice inelului aromatic [32,36]:

- benzi atribuite vibrațiilor de întindere a legăturii C-H aromatic ($3027 - 3039 \text{ cm}^{-1}$, $3053 - 3078 \text{ cm}^{-1}$, $3084 - 3096 \text{ cm}^{-1}$);
- benzi atribuite vibrațiilor de deformare în afara planului a legăturii C-H aromatic ($680 - 1000 \text{ cm}^{-1}$);
- benzi atribuite vibrațiilor de valență ale legăturii C-C aromatic (1485 cm^{-1});
- benzi atribuite vibrațiilor de inel (1025 cm^{-1}).

A doua regiune spectrală o reprezintă $1660 - 2000 \text{ cm}^{-1}$ și este caracteristică benzilor de combinație și armonice ale vibrațiilor γ CH din regiunea $680 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ [32-36].

A treia regiune spectrală, $2830 - 3000 \text{ cm}^{-1}$, scoate în evidență catena laterala alifatică din scheletul molecular al amfetaminelor stimulante prin existența unor picuri în această regiune. Aceste picuri sunt asociate cu vibrațiile de valență simetrice și asimetrice ale grupării metil, CH_3 și respectiv metilen, CH_2 [32-36].

Ultima regiune spectrală, $3050 - 3500 \text{ cm}^{-1}$ este asociată cu benzile de absorbție a vibrațiilor de valență N-H. Vibrațiile de valență și de deformare ale moleculelor NH_2 și NH , în spectrul infraroșu sunt asociate cu existența aminelor primare și secundare. Recunoașterea rapidă nu prezintă reale dificultăți deoarece există, în prezent, studii amănunțite realizate pe această temă [32-36].

Analizând spectrele GC-FTIR ale principalelor amfetamine halucinogene, 3,4 - metilendioxi-amfetamina și 3,4 - metilendioxi-metamfetamina, de asemenea, putem distinge

existența a trei intervale spectrale principale [32-36]. Primul interval spectral evidențiază prezența ciclului aromatic prin existența:

- benzilor de absorbție asociate vibrațiilor de valență C-H aromatic ($3000 - 3100 \text{ cm}^{-1}$);
- benzilor de absorbție asociate vibrațiilor de deformare ale atomilor de hidrogen rămași în inelul aromatic ($680 - 1000 \text{ cm}^{-1}$);
- benzilor de absorbție asociate vibrațiilor de valență a legăturii C-C aromatic (1600 cm^{-1});
- benzilor de absorbție asociate vibrațiilor de inel.

Al doilea interval spectral, $2820 - 2980 \text{ cm}^{-1}$, evidențiază catena laterală alifatică din structura moleculară a amfetaminelor halucinogene, pusă în evidență de existența picurilor în această regiune [32-36].

Ultimul domeniu spectral, $1300 - 1000 \text{ cm}^{-1}$, scoate în evidență banda de absorbție asociată vibrației de valență a legăturii C – O – [32-36].

Concluzii

Spectroscopia vibrațională (FTIR) cuplata cu gazcromatografia (GC) constituie, în prezent, una dintre tehnicile cele mai des folosite în studiul și identificarea principalilor analogi ai amfetaminei. Fezabilitatea și robustețea acestei tehnici se datorează faptului că oferă informații complete despre structura chimică a probelor analizate (atât analiza calitativă cât și analiza cantitativă). Informațiile obținute dintr-un spectru GC-FTIR sunt complementare cu cele furnizate de alte metode de analiză fizico – chimice.

Analizele spectrelor GC-FTIR ale celor patru compuși (amfetamina, metamfetamina, 3,4 – metilendioxiamfetamina și 3,4 – metilendioximetamfetamina) din cele două clase de amfetamine, pun în evidență selectivitatea bună obținută de spectroscopia GC-FTIR în identificarea amfetaminelor. Al doilea rezultat important este faptul că spectroscopia GC-FTIR permite identificarea principalilor analogi ai amfetaminei în funcție de efectul toxic asociat acestora.

Bibliografie

- [1] B. S. Smith, *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011, ISBN 978-1-4200-6930-3.
- [2] M. R. Derrick, D. Stulik, J. M. Landry, *Infrared Spectroscopy in Conservation Science*, J. Paul Getty Trust, 1999, ISBN 0-89236-469-6.
- [3] F. Siebert, P. Hildebrandt, *Vibrational Spectroscopy in Life Science*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008, ISBN 978-3-527-40506-0.
- [4] B. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and applications*, John Wiley & Sons, Ltd, 2004, ISBN 0-470-85427-8.
- [5] K. Wiberg, *Multivariate spectroscopic methods for the analysis of solution*, Akademityck AB, Edsbruk, 2004, ISBN 91-7265-789-8.
- [6] P. Geladi, *Chemometrics in spectroscopy. Part 1. Classical chemometrics*, Spectrochimica Acta Part B, 2003, p. 767-782.
- [7] M. D. Cole, *The analysis of controlled substances*, John Wiley & Sons, Ltd, 2003, ISBN 0-471-49252-3.
- [8] T. S. Renuga Devi, S. Gayathri, *FTIR and FT-Raman Spectral Analysis of Paclitaxel Drugs*, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, Vol. 2, Issue 2, 2010, p. 106-110.
- [9] J. Coates, *Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach*, in Encyclopedia of Analytical Chemistry, R. A. Meyers (Ed.) p. 10815–10837, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000, ISBN 978-0-471-97670-7.
- [10] P. Larkin, *Infrared and Raman Spectroscopy, Principles and spectral interpretation*, Elsevier, 2011, ISBN 978-0-12-386984-5.
- [11] D. S. Yadav, *Organic Spectroscopy*, Kluwer Academic Publishers, 2005, ISBN 1-4020-2574-2.

- [12] D. N. Sathyanarayana, *Vibrational Spectroscopy, Theory and Applications*, New Age International (P) Ltd, Publishers, 2004, ISBN 81-224-1517-2.
- [13] J. Garcia Sole, L. E. Bausa, D. Jaque, *An Introduction to the optical Spectroscopy of Inorganic Solids*, Wiley, 2005, ISBN 0-470-86885-6.
- [14] P. S. Kalsi, *Spectroscopy of organic compounds*, New Age International Publishers, 2004, ISBN 81-224-1543-1.
- [15] Y. Leng, *Materials characterization, Introduction to Microscopic Methods*, John Wiley, 2008, ISBN 978-0-470-82298-2.
- [16] R. Majumdar, *Quantum Mechanics in physics and chemistry with applications to biology*, PHI Learning Private Limited, 2011, ISBN 978-81-203-4304-7.
- [17] A. Ghtak, S. Lokanathan, *Quantum Mechanics: Theory and Applications*, Kluwer Academic Publisher, 2004, ISBN 1-4020-2129-1.
- [18] D. D. Fitts, *Principles of Quantum Mechanics as applied to chemistry and chemical physics*, Cambridge University Press, ISBN 0-511-03701-5.
- [19] P. L. Polavarapa, *Vibrational Spectra: Principles and Applications with emphasis on optical activity*, Elsevier, 1998, ISBN 0-444-89599-X.
- [20] J. M. Hollas, *Basic Atomic and Molecular Spectroscopy*, The Royal Society of Chemistry, 2002, ISBN 0-85404-667-4.
- [21] S. Wartewig, *IR and Raman Spectroscopy. Fundamental Processing*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2003, ISBN 3-527-30245-X.
- [22] C. Y. Chi, *Fourier Series based Nonminimum Phase Model for Statistical Signal Processing*, IEEE Transactions on signal processing, vol. 47, No. 8, 1999, p. 2228-2240.
- [23] R. M. Gray, L. D. Davison, *An Introduction to Statistical Signal Processing*, Cambridge University Press, 2004, ISBN 978-0-511-26221-0.
- [24] S. V. Vaseghi, *Multimedia Signal Processing, Theory and Applications in Speech, Music and Communications*, Wiley, 2007, ISBN 978-0-470-06201-2.
- [25] M. Ciuc, C. Vertan, *Prelucrarea Statistică a Semnalelor*, Ed. MatrixRom, 2005, ISBN 973-685-918-5.
- [26] R. N. Bracewell, *The Fourier Transform and Its Applications*, McGraw Hill Higher Education, 2000, ISBN 0-07-303938-1.
- [27] J. Kauppinen, J. Partanen, *Fourier Transforms in Spectroscopy*, Wiley-VCH Verlag GmbH, 2001, ISBN 3-527-60029.
- [28] The NIST Chemistry webBook. <http://webbook.nist.gov/chemistry>.
- [29] S. Gosav, *Studii privind identificarea amfetaminelor ilicite prin metode spectrale și de inteligență artificială*, Ed. Tehnopress, 2008, ISBN 978-973-702-562-3.
- [30] *Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry*, Thermo Nicolet Corporation, USA, P/N 169-707500, 2, 2001.
- [31] M. Ciuc – "Fourier". www.miv.ro.
- [32] E. Pretsch, P. Buhlmann, M. Badertscher, *Structure Determination of Organic Compounds, Tables of Spectral Data*, Springer, 2009, ISBN 978-3-540-93809-5.
- [33] L. D. Field, S. Sternhell, J. R. Kalman, *Organic Structures from Spectra, Fifth Edition*, John Wiley & Sons, Ltd., 2013, ISBN 9781118325452.
- [34] R. J. Anderson, D. J. Bendell, P. W. Groundwater, *Organic Spectroscopic Analysis*, The Royal Society of Chemistry, 2004, ISBN 0-85404-476-0.
- [35] Y. C. Ning, R. R. Erbst, *Interpretation of Organic Spectra*, Wiley, 2011, ISBN 978-0-470-82831-1.
- [36] D. Whittaker, *Interpreting Organic Spectra*, Royal Society of Chemistry, 2000, ISBN 0-85404-601-1.

Capitolul II

METODE MULTIVARIATE FOLOSITE PENTRU DETECȚIA ȘI IDENTIFICAREA PRINCIPALILOR ANALOGI ȘI PRECURSORI AI AMFETAMINELOR

Chemometria poate fi descrisă în general ca disciplina care aplică metodele matematice și statistice în fizică și chimie în următoarele scopuri: a) îmbunătățirea procesului de măsurare; b) selectarea procedurilor experimentale și de măsurare optime; c) extragerea de informații cât mai utile și mai complete din datele brute ale măsurărilor fizico-chimice. Chemometria utilizează metode matematice, statistice, grafice pentru a îmbunătăți nivelul de înțelegere al informației analitice [1-5].

Analiza componentelor principale utilizează, ca input, o bază de date spectrele ale unor compuși cunoscuți. Această metodă constă în găsirea unor componente principale (PC), ce modelează cât mai bine caracteristicile esențiale ale spectrelor compușilor din baza de date spectrale. Astfel, PCA extrage informații dintr-o cromatogramă sau dintr-un spectru pe două căi: a) numărul de componente principale semnificative este egal cu numărul de componente principale; b) fiecare componentă principală este caracterizată de două informații, scoruri (eng. *scores*) și ponderi (eng. *loading*) [6-10].

Analiza componentelor principale duce la transformarea matematică a datelor din matricea originală (baza de date spectrală inițială), care se pot prezenta sub forma [11-14]:

$$X = T \times P + E \quad (\text{II. 1})$$

unde T reprezintă scorurile și P sunt ponderile. Numărul de coloane din matricea T trebuie să fie egal cu numărul de linii din matricea P [15-17]. Statisticienii nu disting întotdeauna între analiza factorială și PCA, dar pentru chimiști factorii au adesea o semnificație fizică, întrucât componentele principale sunt entități abstracte [2]. Toate procedurile chemometrice menționate în acest paragraf au fost incluse în aplicații software dezvoltate cu ajutorul platformei *Matlab 2012a* [18,19].

Analiza exploratorie a datelor, de exemplu, analiza componentelor principale este o metodă utilizată în principal pentru a stabili relații generale între compușii din baza de date inițială. Analiza clusterelor presupune analiza unei colecții de puncte și gruparea acestora în clustere distincte în concordanță cu distanțele măsurate între aceste puncte.

Primul pas în evaluarea clusterelor îl reprezintă caracterizarea din punct de vedere al indicatorilor de geometrie analitică a asemănării dintre obiectele componente ale unui cluster [20-23].

În scopul caracterizării asemănării dintre obiectele care alcătuiesc clusterelor analizate am calculat [24-27]:

- Coordonatele centrului unui cluster.
- Distanța euclidiană dintre două clusterelor ca fiind distanța dintre centrele celor două clusterelor.
- Dispersia elementelor ce formează un cluster distinct ca distanța euclidiană medie dintre centrul clusterului și punctele asociate elementelor componente.
- Raza clusterului, reprezentând distanța euclidiană maximă dintre centrul clusterului și cel mai depărtat punct din clusterul respectiv.

Clusterizarea aglomerativă este o tehnică eficientă pentru recunoașterea diversilor compuși chimici, ce se bazează pe o metodă de recunoaștere nesupravegheată, respectiv analiza clusterelor [28,29]. Metodele utilizate în această teză nu impun o ordine prestabilită în structura datelor, evidențiind clusterelor numai dacă acestea se formează în mod natural, nesupravegheat [29,30].

În aplicația prezentată, ierarhizarea algoritmilor de determinare a dendogramelor a fost realizată prin intermediul coeficientului cofenetic de corelație. Rezultatele obținute arată că în cazul discriminării amfetaminelor pe baza scorurilor PCA determinate cu ajutorul spectrelor GC-FTIR ale acestora, cele mai bune rezultate sunt obținute prin aplicarea algoritmului *average linkage*.

Evaluările privind modelarea și discriminarea în clustere distincte a diferitelor clase de compuși, prin inspecția vizuală a dispersiei scorurilor PCA, este de cele mai multe ori dificilă. Astfel, în sprijinul acestei evaluări folosim distribuția densităților estimate a scorurilor asociate compușilor din baza de date spectrală [31-37]. De asemenea, analiza distribuției densității estimate pentru fiecare componentă principală (PC) în parte furnizează informații referitoare la delimitarea în clustere specifice a claselor de compuși analizați.

Analiza discriminant (DA), alături de analiza componentelor principale, sunt două metode chemometrice de selecție multivariată a caracteristicilor specifice variabilelor analizate. De asemenea, trebuie menționat că între cele două metode statistice există o diferență esențială. Dacă în analiza componentelor principale, dorim să obținem o proiecție convenabilă în sensul maximizării matricii totale de covariație, în cazul analizei discriminante se dorește obținerea unei proiecții în sensul maximizării matricii de covariație interclase și minimizării matricii de covariație cumulată din interiorul claselor [40-44].

Concluzii

Chemometria a devenit un instrument util în analiza și detecția principalilor analogi și precursori ai amfetaminelor produse în laboratoarele clandestine destinate traficului ilicit de droguri. Astfel metodele chemometrice alături de GC –FTIR sunt folosite cu succes pentru detecția / identificarea și clasificarea compușilor iliciți, precum și în atribuirea identității de clasă unui compus necunoscut. Rezultatele obținute din aplicarea metodelor multivariate prezentate în acest capitol, pot fi comparate, altele fiind complementare, în scopul atingerii obiectivului central, atribuirea, cu o probabilitate bună, a identității de clasă în funcție de efectul toxic asociat compusului testat.

Analiza componentelor principale este o tehnică de cunoaștere a clusterelor nesupravegheată, deci aceasta nu poate defini granițe pentru diversele clustere modelate. Astfel, analiza componentelor principale, în sine, nu permite evaluarea cu obiectivitate și celeritate a sensibilității și / sau selectivității atribuirii identității de clasă a compusului testat. În consecință, eficiența unui sistem de detecție, având la bază analiza componentelor principale, va fi evaluată cu ajutorul dendrogramelor obținute prin analiza clusterelor.

Bibliografie

- [1] M. Otto, *Chemometrics, Statics and Computer Application in Analytical Chemistry*, Wiley 2007, ISBN 978-3-527-31418-8.
- [2] R. G. Brereton, *Chemometrics: data analysis for the laboratory and chemical plant*, Wiley, 2003, ISBN 0-471-48977-8.
- [3] R. G. Brereton, *Chemometrics for Pattern Recognition*, Wiley 2009, ISBN 978-0470-987254.
- [4] D. L. Massart, B. G. M. Vandeginste, S. M. Deming, Y. Michotte, L. Kaufman, *Chemometrics: a textbook*, Elsevier, 2003, ISBN 0-444-42660-4.
- [5] R. G. Brereton, *Multivariate pattern recognition in chemometrics, illustrated by case studies*, Elsevier, 1992, ISBN 0-444-89783-6.
- [6] J. Neamțu, P. G. Anoaică, *Aplicații ale radiațiilor electromagnetice în domeniul medical*, Ed. Medicală Universitară, Craiova, 2006, ISBN 973-106-023-5.
- [7] M. J. Adams, *Chemometrics in Analytical spectroscopy*, 2nd Edition, The Royal Society of Chemistry, 2004, ISBN 0-85404-595-3.
- [8] J. N. Miller, J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Pearson Education Limited, 2005, ISBN 0-131-29192-0.
- [9] R. Wehrens, *Chemometrics with R, Multivariate Data Analysis in the Natural Sciences and Life Sciences*, Springer, 2011, ISBN 978-3-642-17841-2.
- [10] A. Afifi, S. May, V. A. Clark, *Practical Multivariate Analysis*, Fifth Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, 2012, ISBN 978-1-4398-1680-6.
- [11] A. Kelemen, A. Abraham, Y. Liang, *Computational Intelligence in Medical Informatics*, Springer, 2008, ISBN 978-3-540-75766-5.

- [12] I. T. Jolliffe, *Principal Component Analysis*, Second Edition, Springer, 2002, ISBN 0-387-95442-2.
- [13] R. G. Brereton, *Applied Chemometrics for Scientists*, John Wiley & Sons, Ltd, 2007, ISBN 978-0-470-01686-2.
- [14] S. Wold, K. Esbensen, P. Geladi, *Principal Component Analysis*, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, (2) 1987, p. 37 – 52.
- [15] A. C. Rencher, W. F. Christensen, *Methods of Multivariate Analysis*, Third Edition, Wiley, 2012, ISBN 978-0-470-17896-6.
- [16] T. W. Anderson, *An Introduction to Multivariate Statistical Analysis*, Wiley, 2003, ISBN 978-0-471-36091-9.
- [17] A. Shashua, *Inter. to Machine Learning. Lecture 9: Algebraic Representation I: PCA* (scribe), 2003.
- [18] W. Li, T. Zhong, D. Yu, D. Qu, B. Sun, M. Li, Y. Liu, *Application of principal component analysis for identification of drugs packed in anthropomorphic phantom*, *Arpn Journal of Engineering and Applied Sciences*, vol 7, No. 7, 2012, p. 915-921.
- [19] Q. Yang, L. Zhang, L. Wang, H. Xiao, *MultiDA: Chemometric software for multivariate data analysis based on Matlab*, *Chemometrics and Intelligent Laboratory System* 116, 2012, p. 1-8.
- [20] N. H. Timm, *Applied Multivariate Analysis*, Springer, 2002, ISBN 0-387-95347-7.
- [21] C. Fraley, A. E. Raftery, *How many clusters? Answers via model-based cluster analysis*, *The Computer Journal*, vol. 41, No. 8, 1998, p. 578-588.
- [22] B. Fichet, D. Piccolo, R. Verde, M. Vichi, *Clasification and Multivariate Analysis for Complex Data Structures*, Springer, 2011, ISBN 978-3-642-13311-4.
- [23] A. C. Rencher, W. F. Christensen, *Methods of Multivariate Analysis, Third Edition*, Wiley, 2012, ISBN 978-0-470-17896-6.
- [24] E. Mooi, M. Sarstedt, *A Concise Guide to Market Research*, DOI 10.1007/978-3-642-12541-6_9, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2011.
- [25] A. Rajaraman, J. D. Ullman, *Mining of Massive Datasets*, Cambridge University Press, 2012, ISBN 978-1-107-01535-7.
- [26] P. Tryfos, *Methods for Business Analysis and Forecasting: Text & Cases, Chapter 15, Cluster Analysis*, <http://www.yorku.ca/ptyfos/f1500.pdf>.
- [27] P. Tan, M. Steinbach, V. Kumar, *Introduction to Data Mining, Chapter 8, Cluster Analysis: Basic Concepts and Algorithms*, www-users.cs.umn.edu/~kumar/dmbook/ch8.pdf.
- [28] S. Ciochina, M. Praisler, *Cluster analysis applied for the discrimination of illicit amphetamines*, *Annals of "Dunarea de Jos" University of Galati, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics, Fascicle II, Year V (XXXVI) 2013, Nos. 1-2*, p. 60 – 67, ISSN 2067-2071.
- [29] D. Mullner, *Modern hierarchical, agglomerative clustering algorithms*, arXiv:1109.2378v1, 2011.
- [30] L. Kaufman, P.J. Rousseeuw, *Finding Groups in Data. An Introduction to Cluster Analysis*, Wiley, 2005.
- [31] K. Fukunaga, *Introduction to Statistical Pattern Recognition, Second Edition*, Academic Press, 1990, ISBN 0-12-269851-7.
- [32] S. Theodoridis, K. Koutroubas, *An Introduction to Pattern Recognition: A Matlab Approach*, Academic Press, 2010, DOI 10.1016/B 978-0-12-374486-9.00001-4.
- [33] T. Hastie, R. Tibshirani, J. Friedman, *The Elements of Statistical Learning Data Mining, Inference, and Prediction, Second Edition*, Springer, 2009, ISBN 978-0-387-848557-0.
- [34] F. L. Chow, *Mathematical Methods for Physicists: A concise introduction*, Cambridge University Press, 2003, ISBN 0-524-65227-8.
- [35] A. Rinaldo, A. Singh, R. Nugent, L. Wasserman, *Stability of Density – Based Clustering*, *Journal of Machine Learning Research* 13, 2012, p. 905-948.
- [36] W. Hardle, L. Simar, *Applied Multivariate Statistical Analysis*, Method & Data Technologies, Tech, 2003.
- [37] W. Zucchini, *Applied smoothing techniques, Part 1: Kernel Density Estimation*, Retrieved 28 March 2012.

- [38] B. Pauna, *Tehnici neparametrice*, Caiet de studii, Institutul Național de Cercetare Economică, Academia Română, 2008.
- [39] C. Rose, M. D. Smith, *Mathematical statistics with Mathematica*, Springer-Verlay, 2002. ISBN 0-387-95234.
- [40] G. McLachlan, *Discriminant Analysis and Statistical Pattern Recognition*, John Wiley & Sons, 2004, ISBN 0-471-69115-1.
- [41] S. Zani, A. Cerioli, M. Riani, M. Vichi, *Data Analysis, Classification and the Forward Search*, Springer, 2006, ISSN 1431-8814.
- [42] G. A. Marcoulides, S. L. Hershberger, *Multivariate Statistical Methods, A First Course*, Lawrence Erlbaum Associates, 1997, ISBN 0-8058-2571-1.
- [43] D. Cai, X. He, J. Han, *Speed up kernel discriminant analysis*, The VLDB Journal, 2011, 20, p. 21-33.
- [44] R. G. Brereton, *Chemometrics, Applications of Mathematics and Statistics to Laboratory Systems*, Ellis Horwood Limited, 1990, ISBN 0-13-131350-9.

Capitolul III

CONTRIBUȚII PROPRII OBȚINUTE ÎN DETECȚIA AMFETAMINELOR ȘI PRINCIPALILOR PRECURSORI AI ACESTORA PRIN METODE CHEMOMETRICE DE RECUNOAȘTERE A FORMELOR

III. 1. Introducere

Amfetaminele sunt droguri sintetice care stimulează sistemul nervos central, devenite foarte populare printre consumatorii de droguri [1]. Structura chimică a amfetaminelor conține un ciclu aromatic legat la o grupare amino prin intermediul unei catene laterale alifatică la unul sau doi atomi de carbon [2]. Modul de substituție al ciclului aromatic influențează activitatea toxicologică a principalilor analogi ai amfetaminei. Astfel, compușii care au ciclul aromatic nesubstituit formează clasa amfetaminelor stimulante, iar cei la care inelul aromatic este trisubstituit (de exemplu 3,4- metilendioximetamfetamina, cunoscută pe piața neagră sub numele de „Ecstasy”) produc, pe lângă efectul stimulant, efecte neurotoxice ce se manifestă prin halucinații.

III. 2. Baza de date spectrală GC-FTIR

Baza de date utilizată ca input pentru PCA conține 30 de spectre, reprezentând 7 amfetamine stimulante (cod de clasa M), 6 amfetamine halucinogene (cod de clasa T) și 17 substanțe non-amfetaminice de interes toxicologic. Amfetaminele incluse în baza de date spectrală sunt: amfetamina, β -feniletilamina, metamfetamina, *N*-etilamfetamina, *N-n*-propilamfetamina, α -feniletilamina, *N*-metil- α -feniletilamina (cod de clasa M); 3,4-metilendioxi-amfetamina, 3,4-metilendioxi-*N*-etilamfetamina, 1-(3,4-metilendioxifenil)-2-butanamina, 3,4-metilendioximetamfetamina, *N*-metil-1-(3,4-metilendioxifenil)-2-butanamina, 3,4-metilendioxi-*N*-hidroxiamfetamina (cod de clasa T). Restul de 17 substanțe incluse în baza de date spectrală reprezintă substanțe non-amfetaminice (cod de clasa N) de interes toxicologic: codeina-PFPA, acid γ -hidroxibutiric (TMS), cafeina, γ -valerolactona, γ -butirolactona, cadaverina, piracetam, bemegrada, β -butirolactona, acid γ -hidroxivaleric (TMS), cocaina I.S., γ -butirolactona artefact 1 (produs de degradare termică ce apare la separarea cromatografică a γ -butirolactonei), nicotamida, cadaverina – HFBA, dextromoramida, prolantan și putresceina [5]. Spectrele analizate au fost înregistrate între 4000 și 600 cm^{-1} , iar absorbanta a fost măsurată la fiecare 5 cm^{-1} . Astfel, fiecare spectru reprezintă un vector cu 681 de variabile. În consecință, baza de date spectrală folosită ca input pentru PCA reprezintă o matrice cu 30 \times 681 de intrări [5,6]

III. 3. Studiu de fezabilitate privind detecția și discriminarea amfetaminelor pe baza spectrelor GC-FTIR vibraționale

Pentru determinarea numărului de componente principale (PC) cu ajutorul cărora este util să se efectueze PCA, s-a analizat dinamica varianței explicate cumulate. Figura III. 1 arată că aceasta crește până când atinge un palier cu o valoare practic constantă. În consecință, am considerat adecvat să realizăm PCA cu primele 10 PC, contribuția PC ulterioare la creșterea varianței explicate cumulate fiind ne semnificativă [5].

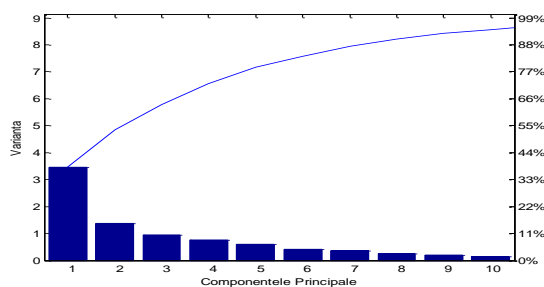


Figura III. 1. Varianța explicată a primelor 10 componente principale.

Studiul de fezabilitate privind detecția amfetaminelor ilicite prin intermediul PCA a fost realizat prin analiza dispersiei scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR din baza de date spectrală în spațiul multidimensional definit de primele 10 PC. Cele mai bune rezultate se observă în reprezentarea scorurilor (eng. *scatter plot*) calculate pentru primele două PC (vezi Figura III. 2).

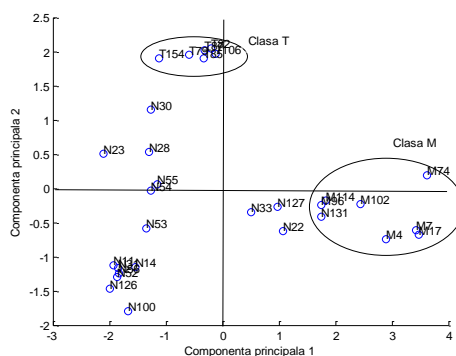


Figura III. 2. Reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2 asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinoagenă (clasa T) și a negativelor (clasa N).

Pentru a identifica care sunt principalele absorbții care contribuie la formarea acestor clustere, am analizat reprezentarea ponderilor variabilelor (numerele de undă). Variabilele care au cea mai mare contribuție în modelarea unui cluster sunt cele a căror vectori de poziție în reprezentarea ponderilor sunt îndreptați în direcția în care se situează clusterul în cauză în reprezentarea scorurilor [18]. Dintre acestea, cele caracterizate de ponderile cele mai mari au cea mai mare putere de modelare, generând gruparea compușilor în clustere distincte.

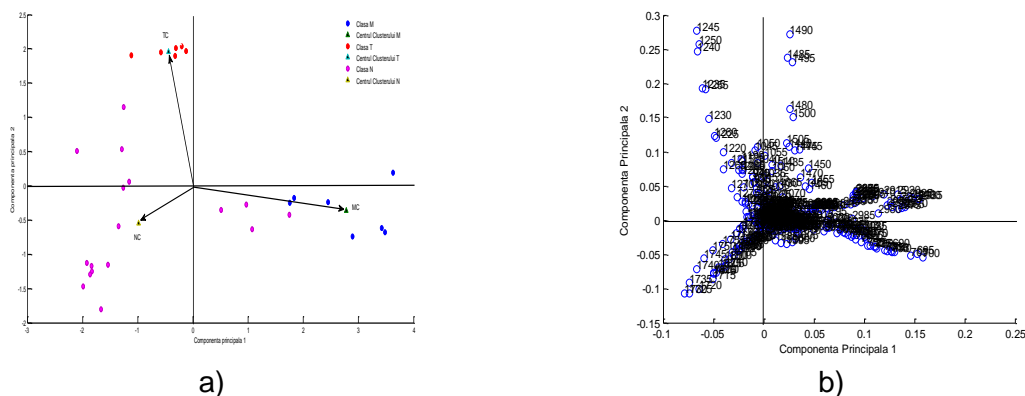


Figura III. 3. Reprezentarea PC1 vs. PC2 pentru spectrele din baza de date:
 a) reprezentarea scorurilor și a vectorilor de poziție corespunzători centrului fiecărui cluster;
 b) reprezentarea ponderilor.

Analiza reprezentării ponderilor asociată (Figura III. 3b) indică două seturi de variabile care pun cel mai bine în evidență specificitatea amfetaminelor halucinogene (clasa T). Un prim set este format din absorbțiile caracterizate de cele mai mari valori ale ponderilor PC2 și de unghiurile minime cu vectorul de poziție a centrului clusterului T, respectiv 1230, 1235, 1240, 1245, 1250 și 1255 cm^{-1} . Un al doilea set de variabile care contribuie la scorurile PC2 mari ale amfetaminelor halucinogene este format din variabilele 1480, 1485, 1490, 1495 și 1500 cm^{-1} . Variabilele cu cea mai mare influență în modelarea amfetaminelor stimulante (clasa M), respectiv absorbțiile care au ponderile PC1 pozitive de valoare maximă, sunt absorbțiile ce apar între 2900 și 2990 cm^{-1} , respectiv între 695 și 735 cm^{-1} (vezi Figura III. 3b).

III. 4. Optimizarea detecției amfetaminelor bazată pe analiza componentelor principale

În scopul optimizării detecției amfetaminelor bazată pe PCA, spectrele din baza de date au fost împărțite în două clase de spectre distincte. Clasa I conține spectrele substanțelor pozitive (cod de clasă M și T). Clasa II conține spectrele compușilor negativi (cod de clasă N). Spectrele din baza de date au fost procesate cu două amplificatoare selective w și w^2 și un selector amplificator $(w-1)^2$ în scopul sporirii intensității absorbțiilor importante, adică a celor care au cea mai mare putere de modelare sau de discriminare. Amplificatorul selectiv are expresia [5,6]:

$$w_k = \frac{\sum \frac{A_{I}^2}{N_I} + \sum \frac{A_{II}^2}{N_{II}} - 2 \sum \sum \frac{A_I A_{II}}{N_I N_{II}}}{\sum \frac{(A_I - \bar{A}_I)^2}{N_I} + \sum \frac{(A_{II} - \bar{A}_{II})^2}{N_{II}}} \quad (\text{III.1})$$

unde A_I și A_{II} reprezintă absorbțiile din spectrele GC-FTIR corespunzătoare probelor din clasele I și II, N_I și N_{II} reprezintă numărul de probe din clasele I și II.

În vederea determinării numărului de componente principale (PC) cu ajutorul cărora este util să se efectueze PCA, s-a analizat dinamica varianței explicate cumulate. Figura III. 4 arată că varianța explicată cumulată crește rapid, după care atinge un palier cu o valoare practic constantă.

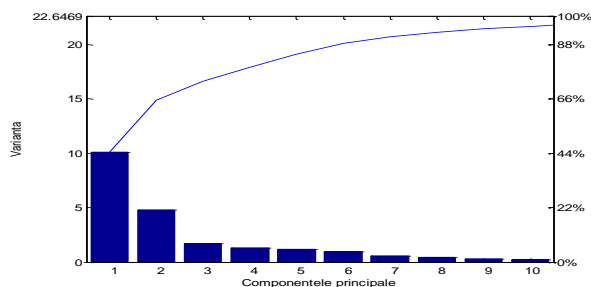


Figura III. 4. Varianța explicată a componentelor principale în cazul spectrelor procesate cu amplificatorul selectiv w .

Pentru a verifica în ce măsură este posibilă optimizarea detecției și clusterizării amfetaminelor ilicite în funcție de activitatea biologică (modul de substituție al inelului aromatic) a acestora prin intermediul PCA s-a analizat reprezentarea scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR din baza de date spectrală neprocesate și procesate cu amplificatorul selectiv w în spațiul multidimensional definit de primele 10 PC.

Amfetaminele halucinogene (clasa T) formează clusterul cel mai bine definit, acestea fiind singurii compuși cu scoruri PC2 pozitive mari (vezi Figurile III. 2, III. 5). Este de remarcat faptul că scorurile corespunzătoare PC2 ale halucinogenelor, în cazul spectrelor procesate, sunt distanțate cu aproape 4 unități de punctele asociate celorlalte substanțe (vezi Figura III. 5), pe când diferența minimă în cazul spectrelor neprocesate este puțin mai mare de o unitate (vezi Figura III. 2).

Clusterelor formate de compușii din clasele M și N sunt mai puțin diferențiate atât în cazul spectrelor neprocesate, cât și a celor procesate cu amplificatorul selectiv w . Analogii din clasa amfetaminelor stimulante (clasa M) sunt singurii compuși care au scorurile PC1 pozitive și PC2 negative, cu excepția negativelor N22 – cadaverina, N33 – dextromoramida, N127 – prolintan și N131 – putresceina (vezi Figurile III. 2 și III. 5).

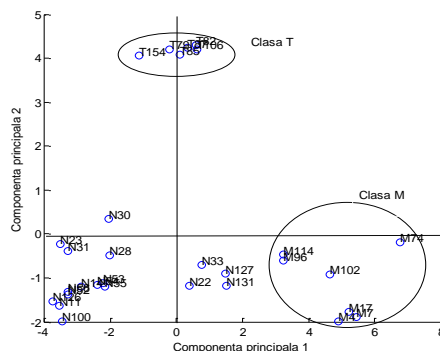


Figura III. 5. Reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2 asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T) și a negativelor (clasa N) procesate cu amplificatorul selectiv w .

Evaluarea distribuției densității estimate pentru fiecare componentă principală (PC) în parte furnizează informații referitoare la delimitarea în cluster specific a principalilor analogi ai amfetaminei.

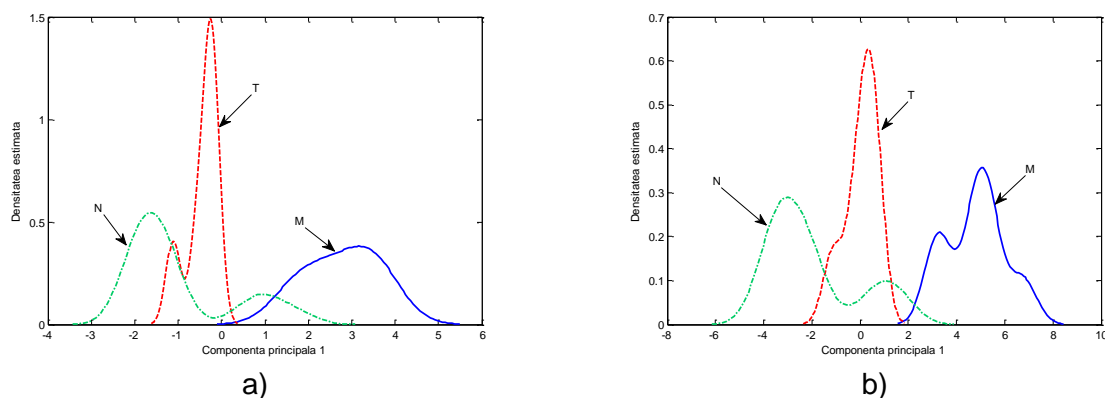


Figura III. 6. Densitatea estimată pentru scorurile PC1 asociate amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T) și a negativilor (clasa N)
 a) spectre neprocesate; b) spectre procesate cu amplificatorul selectiv w .

Distribuția densității estimate pentru PC1 (vezi Figura III. 6) indică faptul că amplificatorul selector w conduce la o grupare semnificativ mai bine delimitată în clusterelor specifice. Clusterul amfetaminelor halucinogene (clasa T) condensează, astfel încât maximum local PC1 = -1,111 ce apare în densitatea estimată a clasei T pentru spectrele neprelucrate devine un „umăr” al distribuției densității estimate în cazul spectrelor procesate. Amplificatorul selector w generează și o delimitare mult mai bună a clusterului amfetaminelor stimulante (clasa M) de clusterul negativilor (clasa N): distribuțiile densităților estimate ale celor două cluster se suprapun mult mai puțin în cazul spectrelor procesate.

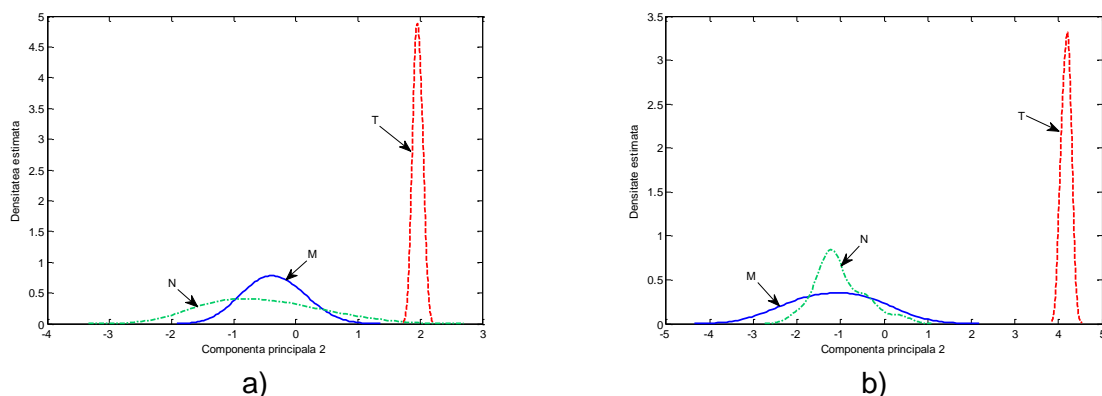


Figura III. 7. Densitatea estimată pentru scorurile PC2 asociate amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T) și a negativilor (clasa N)
 a) spectre neprocesate; b) spectre procesate cu amplificatorul selectiv w .

Efectul benefic al amplificatorului selectiv se manifestă însă cel mai pregnant în cazul negativilor. Se observă că în cazul compușilor din clasa N, valoarea maximumului densității estimate PC2 este mai mare în cazul spectrelor procesate decât în cazul celor neprocesate (vezi Figura III. 7).

Analiza reprezentării scorurilor a indicat faptul că, în cazul spectrelor preprocesate cu amplificatorul selectiv w , cele mai adecvate reprezentări pentru detecția clusterelor formate de clasele de substanțe modelate sunt cele obținute prin combinarea primelor două PC (vezi Figurile III. 8a). Pentru a identifica care sunt principalele absorbții care contribuie la formarea acestor cluster, a fost analizată reprezentarea ponderilor asociate numerelor de undă.

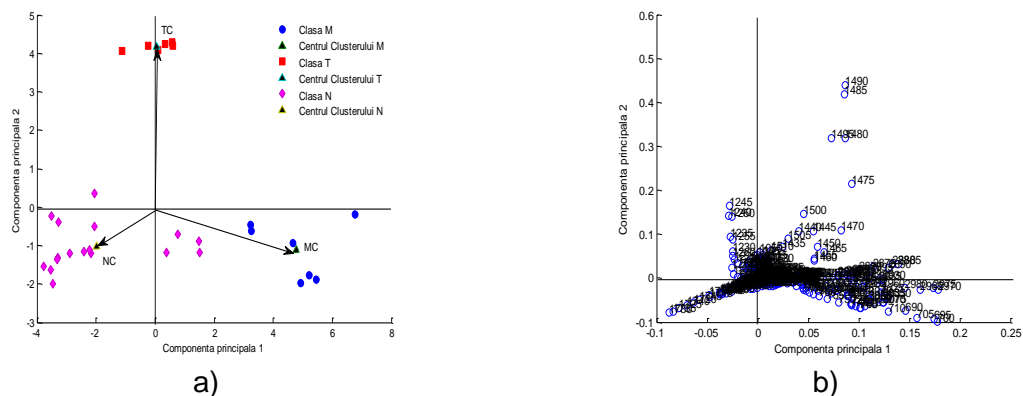


Figura III. 8. Reprezentarea PC1 vs. PC2 pentru spectrele din baza de date procesate cu amplificatorul selectiv w . a) reprezentarea scorurilor și a vectorilor de poziție corespunzători centrului fiecărui cluster; b) reprezentarea ponderilor.

Analiza ponderilor PC1 vs. PC2 (vezi Figura III. 8b) indică existența a două seturi de variabile care pun cel mai bine în evidență specificitatea amfetaminelor halucinogene (clasa T). Un prim set este format din absorbțiile a căror vectori de poziție fac unghiurile cele mai mici cu vectorul de poziție al centrului clusterului T și au cele mai mari ponderi PC2, respectiv 1470, 1475, 1480, 1485, 1490, 1495 și 1500 cm^{-1} . Un al doilea set este format din absorbțiile de la numerele de undă 1235, 1240, 1245, 1250 și 1255 cm^{-1} , ce definesc anelul benzii de absorbție de la 1245 cm^{-1} , asociată cu vibrația de întindere a grupării C-O din poziția *para* și *orto* a heterociclului din structura moleculară a halucinogenelor [19-22].

Variabilele cu cea mai mare influență în modelarea și discriminarea amfetaminelor stimulante (clasa M) sunt absorbțiile care au ponderile PC1 pozitive cu valorile cele mai mari și ai căror vectori de poziție în reprezentarea ponderilor au aproximativ aceeași direcție cu vectorul de poziție a centrului clusterului M în reprezentarea scorurilor [23]. Acestea sunt absorbțiile din domeniile 695 - 735 cm^{-1} și 2900 - 2990 cm^{-1} [25].

III. 5. Optimizarea detecției multivariate a amfetaminelor prin preprocesarea spectrelor GC-FTIR cu amplificatorul selectiv w^2

Detecția amfetaminelor ilicite având la bază PCA poate fi optimizată prin preprocesarea spectrelor din baza de date de intrare [27]. În acest scop, spectrele inițiale au fost preprocesate cu amplificatorul selectiv w^2 și supuse PCA.

Pentru determinarea numărului de componente principale (PC) cu ajutorul cărora este util să se efectueze PCA în cazul spectrelor preprocesate cu amplificatorul selectiv w^2 , s-a analizat dinamica varianței explicate cumulate. Figura III. 9 arată că varianța explicată cumulată înregistrează o creștere rapidă, după care atinge un nivel cu o valoare practic constantă. Altfel spus, metoda de optimizare a detecției principalelor amfetamine ilicite, utilizând preprocesarea spectrelor cu amplificatorul selectiv w^2 comprimă hiperspațiul definit de spectrele inițiale și scurtează timpul de detecție.

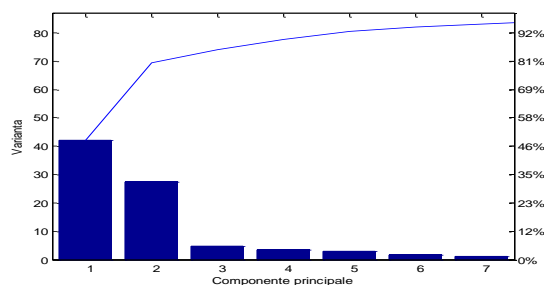


Figura III. 9. Varianța explicată a componentelor principale în cazul spectrelor preprocesate cu amplificatorul selectiv w^2 .

Analiza vizuală a reprezentării scorurilor în diverse combinații de PC indică faptul că, atât în cazul spectrelor neprocesate [17], cât și în cazul spectrelor preprocesate cu amplificatorul selectiv w^2 , cele mai bune rezultate se obțin în reprezentarea scorurilor determinate pentru primele două PC (vezi Figura III. 2 și Figura III. 10). De asemenea, în cazul spectrelor preprocesate, clusterurile sunt mult mai departate unele de altele decât în cazul PCA realizată cu spectrele neprocesate.

Amfetaminele halucinogene (clasa T) formează un cluster foarte bine definit, aceștia fiind singurii compuși cu scoruri PC2 pozitive mari (vezi Figurile III. 2 și III. 10). Altfel spus, metoda de optimizare propusă mărește selectivitatea metodei de detecție fără să afecteze sensibilitatea obținută cu spectrele neprocesate.

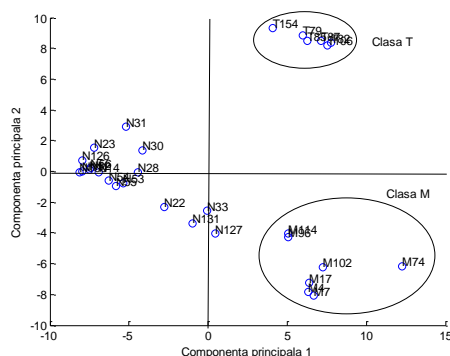


Figura III. 10. Reprezentarea scorurilor PC 1 vs. PC2 asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T) și a negativilor (clasa N) preprocesate cu amplificatorul selectiv w^2 .

Al doilea rezultat remarcabil este faptul că, în cazul spectrelor preprocesate cu amplificatorul selectiv w^2 , scorurile PC2 ale halucinozenelor sunt distanțate cu mai bine de 4 unități de punctele asociate celorlalte substanțe (vezi Figura III. 10), diferența minimă obținută în cazul spectrelor neprocesate fiind puțin mai mare de o unitate (vezi Figura III. 2). Astfel, puterea de discriminare a sistemului are o creștere însemnată în cazul halucinozenelor.

Concluziile analizei reprezentării scorurilor sunt susținute și de distribuția densităților estimate a scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR (vezi Figurile III. 11) [24].

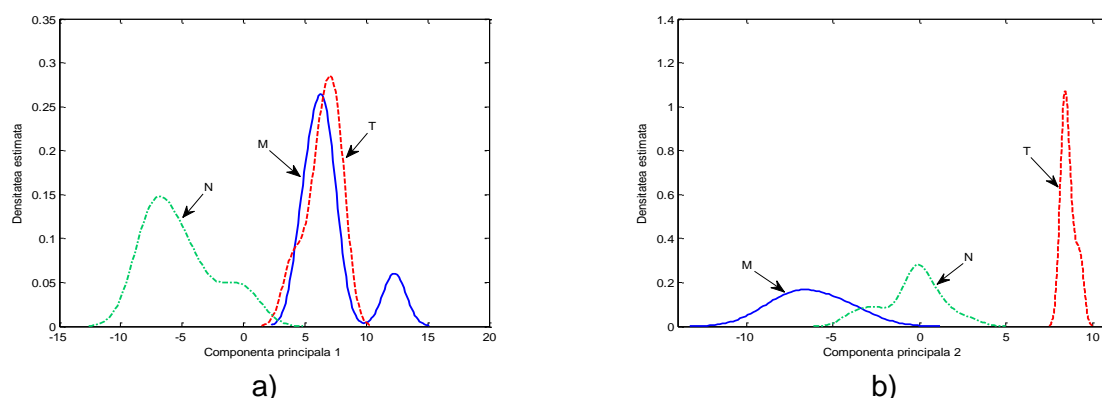


Figura III. 11. Densitatea estimată pentru scorurile PC1 (a) și respectiv pentru scorurile PC2 (b) asociate amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T) și a negativilor (clasa N) pentru spectre preprocesate cu amplificatorul selectiv w^2 .

Distribuția densității estimate pentru PC1 (vezi Figura III. 11) indică faptul că amplificatorul selectiv w^2 conduce la o discriminare semnificativă a compușilor pozitivi de clusterul specific negativilor. Distribuția densității estimate pentru PC2 (vezi Figura III. 11b) arată că amplificatorul selectiv w^2 generează o grupare în clusteruri semnificativ mai

bine delimitate. În cazul spectrelor procesate cu amplificatorul selectiv w^2 , amfetaminele stimulante formează un cluster mult mai bine definit [28-30].

Distribuțiile scorurilor cele mai utile detecției s-au dovedit a fi, în cazul spectrelor procesate cu amplificatorul selectiv w^2 , cele obținute din combinarea primelor două PC (vezi Figurile III. 12a). Analiza scorurilor pune în evidență formarea a trei cluster bine definite pentru analogii amfetaminelor (amfetaminele stimulante – clasa M și halucinogene - clasa T) și a unuia relativ difuz pentru compușii negativi. Principalele absorbții care contribuie la formarea acestor cluster au fost identificate analizând reprezentarea ponderilor [31].

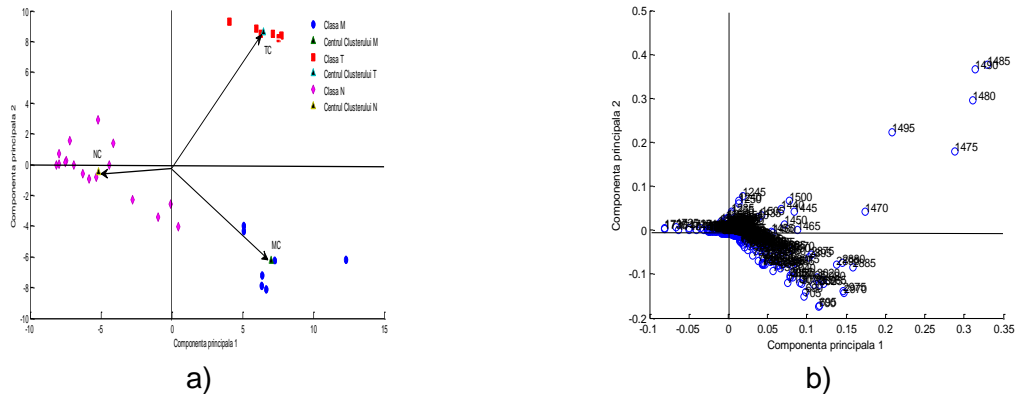


Figura III. 12. Reprezentarea PC1 vs. PC2 pentru spectrele din baza de date procesate cu amplificatorul selectiv w^2 : a) reprezentarea scorurilor și a vectorilor de poziție corespunzătorii centrului fiecărui cluster; b) reprezentarea ponderilor.

Figura III. 12b accentuează faptul că există două seturi de variabile care pun cel mai bine în evidență specificitatea amfetaminelor halucinogene (clasa T). Un prim set de variabile a căror vector de poziție face un unghi de valoare minimă cu vectorul de poziție al centrului clusterului T este format din absorbțiile caracterizate de cele mai mari valori ale ponderilor PC2, respectiv de la 1445 la 1500 cm^{-1} . Un al doilea set este format din absorbțiile caracterizate de valori relativ mari ale ponderilor PC2 și sunt caracterizate de unghiuri minime cu vectorul de poziție a centrului clusterului T, respectiv 1240, 1245 și 1250 cm^{-1} .

Variabilele care contribuie cel mai semnificativ pentru discriminarea și modelarea amfetaminelor stimulante (clasa M) sunt caracterizate de unghiuri minime cu vectorul de poziție a centrului clusterului M și au ponderile PC1 pozitive de valoare maximă, respectiv absorbțiile de la 2885 la 3020 cm^{-1} și de la 695 la 735 cm^{-1} (vezi Figura III. 12b).

În urma optimizării, detecția se dovedește atât selectivă cât și sensibilă, atât în cazul amfetaminelor halucinogene (clasa T) cât și în cazul amfetaminelor stimulante (clasa M). În ceea ce privește non-amfetaminele (clasa N), metoda este sensibilă, dar mai puțin selectivă, existând o substanță (prolintan) care înregistrează o valoare a ponderii PC1 pozitivă [34].

III. 6. Studiu de fezabilitate privind detecția amfetaminelor prin PCA aplicată spectrelor procesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$

Detecția amfetaminelor ilicite având la baza PCA poate fi optimizată prin procesarea spectrelor din baza de date inițială. Astfel, spectrele inițiale au fost împărțite în două clase de spectre distincte. Clasa I, care conține spectrele de interes (cod de clasa M, cod de clasa T) și clasa II, care conține spectrele compuşilor nonamfetamine (cod de clasa N). Funcția $(w-1)^2$ acționează ca un puternic selector amplificator prin anularea absorbțiilor corespunzătoare numerelor de undă fără putere mare de discriminare (pentru care $(w-1)^2 = 0$). Astfel, absorbțiile sunt anulate acolo unde funcția $(w-1)^2$ e nulă, pentru că absorbțiile se înmulțesc cu valoarea funcției la numărul de undă respectiv și intensitatea absorbției multiplicată acolo unde funcția selector amplificator are maxime, măbind astfel diferențele în intensitate a absorbțiilor reale măsurate la acel număr de undă în diversele spectre analizate.

Pentru determinarea numărului de componente principale (PC) cu ajutorul cărora este util să se efectueze PCA, s-a analizat dinamica varianței explicate cumulate. În Figura III. 13

se observă că varianța explicată cumulată crește până când atinge un nivel cu o valoare practic constantă.

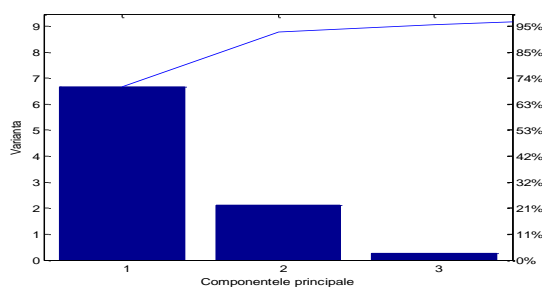


Figura III. 13. Varianța explicată a componentelor principale în cazul spectrelor preprocesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$

Pentru optimizarea detecției și discriminării în clustere distincte a amfetaminelor ilicite în funcție de activitatea biologică a acestora prin intermediul PCA s-a analizat dispersia scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR din baza de date spectrală procesate cu selectorul multiplicativ $(w-1)^2$ în spațiul multidimensional definit de primele două PC.

Analogii din clasa M sunt foarte bine conturați într-un cluster, fiind singurii cu scorurile pozitive PC1 și PC2. Analogii din clasa T sunt și ei foarte bine puși în evidență în alt cluster, fiind singurii cu scoruri PC1 pozitive și PC2 negative (Figura III. 14). Spre deosebire de acestea, compușii non-amfetaminici (clasa N) apar numai în cadranele 2 și 3, fiind caracterizați de scoruri PC1 negative. Se observă însă că discriminarea acestora este mult mai bună decât în cazul procesării spectrelor cu amplificatorul selectiv w^2 . Astfel, putem deduce că avantajul utilizării selectorului amplificativ $(w-1)^2$ se referă în primul rând la modelarea negativelor și discriminarea acestora față de substanțele pozitive (aparținând claselor M și T).

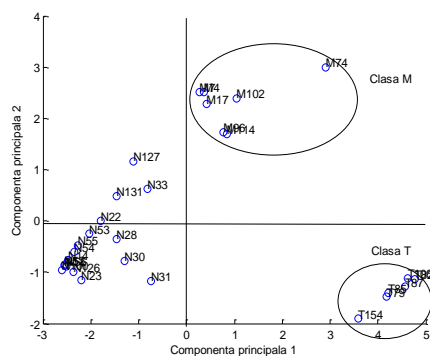


Figura III. 14. Reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2 asociate spectrelor ale amfetaminelor stimulente (clasa M), halucinogene (clasa T) și a negativelor (clasa N).

Distribuția densității estimate pentru PC1 (vezi Figura III. 15) indică faptul că selectorul amplificativ $(w-1)^2$ conduce la o discriminare semnificativ îmbunătățită în clustere specifice în funcție de activitatea biologică și efectul toxic asociat amfetaminelor studiate. Clusterul amfetaminelor halucinogene (clasa T) condensează considerabil. Selectorul multiplicativ $(w-1)^2$ generează, în același timp, și o discriminare mult îmbunătățită a clusterului amfetaminelor stimulente (clasa M) de clusterul negativelor (clasa N): distribuțiile densităților estimate ale celor două clustere se suprapun mult mai puțin în cazul spectrelor preprocesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$.

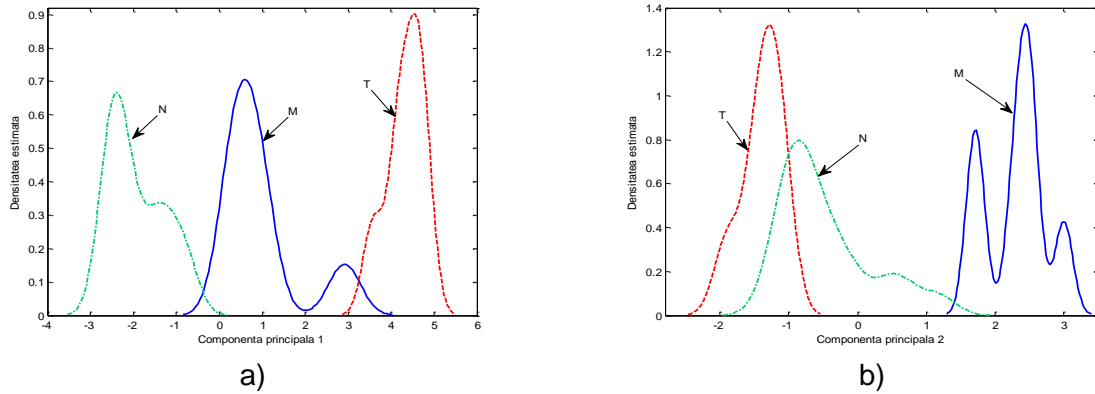


Figura III. 15. Densitatea estimată pentru scorurile PC1 (a) și respectiv pentru scorurile PC2 (b) asociate amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T) și a negativilor (clasa N) pentru spectre preprocesate cu selectorul multiplicativ $(w-1)^2$.

Forma distribuțiilor densităților estimate pentru PC2 (vezi Figura III. 15b) arată că selectorul amplificativ $(w-1)^2$ evidențiază o discriminare în clustere specifice semnificativ îmbunătățită. Figura III. 6a arată că dacă se folosesc spectre neprocesate, există compuși din clasa non-amfetaminelor (clasa N) cu scoruri PC2 asociate apropiate de cele ale amfetaminelor stimulante. În cazul spectrelor procesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$, amfetaminele stimulante formează un cluster mult mai bine modelat (vezi Figura III. 15). De asemenea, selectorul amplificativ $(w-1)^2$ generează, în cazul amfetaminelor stimulante, scoruri asociate substanțial mai mari decât a celorlalți compuși.

Pentru obținerea unei eficiențe sporite în selecția variabilelor (absorbțiilor) corelate cu contribuția cea mai importantă la discriminarea și modelarea diverselor cluster, am calculat coordonatele centrelor clusterelor în funcție de scorurile compușilor, ale caror spectre au fost procesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$, care formează fiecare cluster în parte [32].

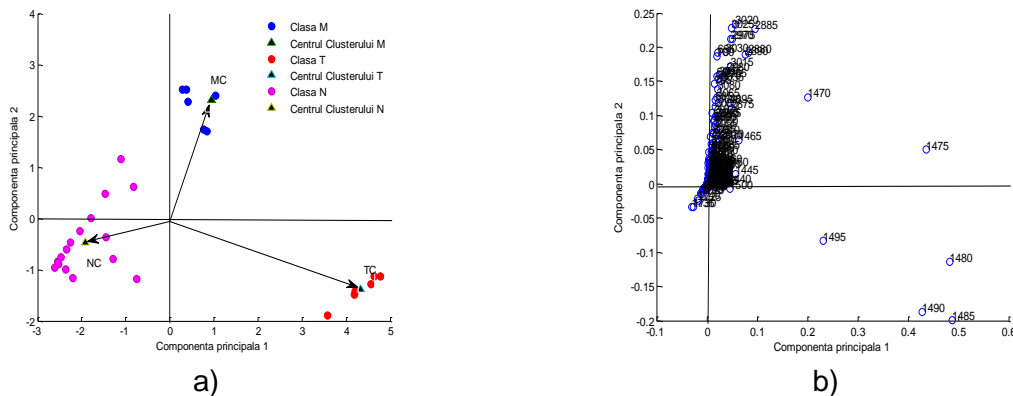


Figura III. 16. Reprezentarea PC1 vs. PC2 pentru spectrele din baza de date procesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$: a) reprezentarea scorurilor și a vectorilor de poziție corespunzătorii centrului fiecărui cluster; b) reprezentarea ponderilor.

Analiza componentelor principale în cazul spectrelor procesate cu selectorul multiplicativ $(w-1)^2$ a reușit să pună în evidență trei cluster distincte ale analogilor din clase M, T și N. Figura III. 16b pune în evidență faptul că există un set de variabile care pune cel mai bine în evidență specificitatea amfetaminelor halucinogene (clasa T). Acesta este format din absorbțiile caracterizate de cele mai mari valori ale ponderilor PC1 și sunt caracterizate de unghiuri minime cu vectorul de poziție a centrului clusterului T, respectiv intervalul $1495 - 1470 \text{ cm}^{-1}$.

În concluzie, s-a analizat impactul fiecărei absorbții FTIR din spectrele amfetaminelor ilicite, neprocesate și apoi preprocesate cu amplificatorii selectivi w și w^2 și selectorul amplificativ $(w-1)^2$, asupra eficienței detecției bazate pe PCA, ca metodă chemometrică de recunoaștere nesupervizată a formelor. Analiza reprezentărilor ponderilor variabilelor au

indicat atât absorbțiile cu cea mai mare putere de modelare și / sau discriminare, cât și unitățile de structură moleculară care le generează.

III. 7. Evaluarea eficienței detecției amfetaminelor prin analiza clusterelor

Analiza clusterelor obținute în această reprezentare, pentru spectrele GC-FTIR neprocesate, procesate cu amplificatorii selectivi w și w^2 , respectiv cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$ a fost realizată cu ajutorul dendrogramei realizate cu scorurile PC1 și PC2 (vezi Figurile III. 17, III. 18, III. 19 și III. 20). Dendrogramele au fost obținute cu ajutorul aplicației software *Matlab 2012a*, în care am utilizat un algoritm de clusterizare aglomerativ împreună cu metoda legăturii medii (eng. *average linkage*) [7].

Dendrogramele indică în toate cazurile existența aceluiași trei ramuri specifice amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene (clasa T) și clasa non-amfetaminelor (clasa N). Figura III. 17 confirmă faptul că detecția (clasificarea, recunoașterea identității de clasă a) amfetaminelor ilicite are loc în funcție de activitatea lor biologică principală chiar și cu spectrele neprocesate. Existența acestei corelații structură chimică – activitate biologică este extrem de utilă în evaluarea și caracterizarea metodei de detecție [35].

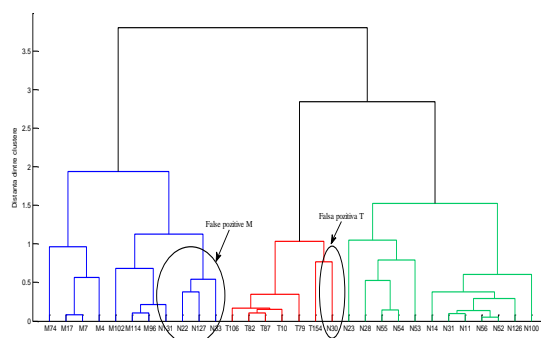


Figura III. 17. Dendrograma distanțelor dintre scorurile PC1 vs. PC2 asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene (clasa T) și a negativelor (clasa N) în cazul spectrelor neprocesate.

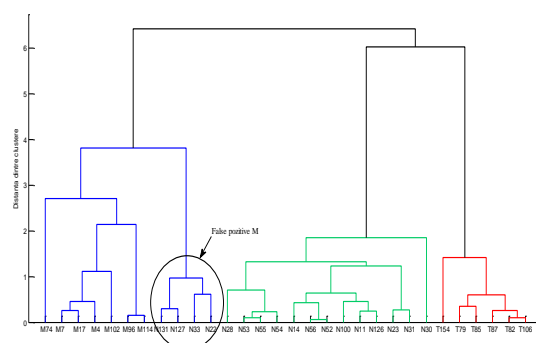


Figura III. 18. Dendrograma distanțelor dintre scorurile PC1 vs. PC2 asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene (clasa T) și a negativelor (clasa N) în cazul spectrelor procesate cu amplificatorul selectiv w .

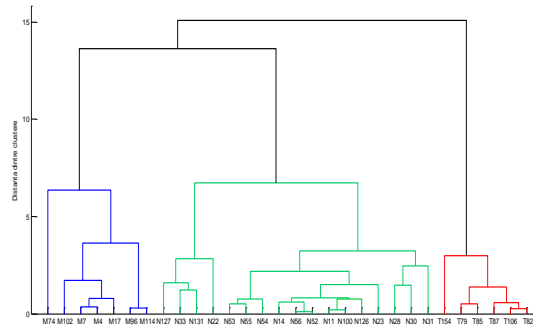


Figura III. 19. Dendrograma distanțelor dintre scorurile PC1 vs. PC2 asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene (clasa T) și a negativilor (clasa N) în cazul spectrelor procesate cu amplificatorul selectiv w^2 .

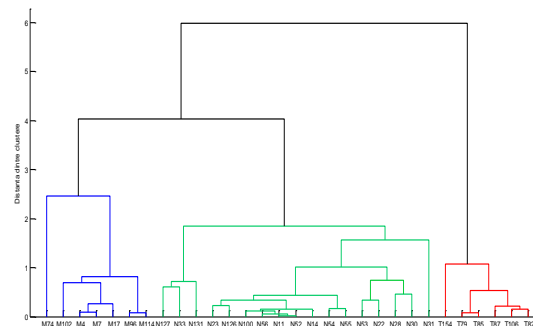


Figura III. 20. Dendrograma distanțelor dintre scorurile PC1 vs. PC2 asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene (clasa T) și a negativilor (clasa N) în cazul spectrelor procesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$.

Rezultatele cele mai bune în detecția amfetaminelor se obțin în cazul procesării spectrelor cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$ (vezi Figura III. 20), în acest caz obținându-se distanțele cele mai mari între clusterelor analizate, deci cea mai bună selectivitate a sistemului. Selectorul amplificativ generează trei clusterelor compacte cu o omogenitate foarte bună: nici în acest caz nu se înregistrează false pozitive sau false negative. Clusterizarea obținută cu această metodă este atât de bună încât analiza scorurilor unei substanțe necunoscute poate constitui în sine o metodă de detecție performantă a amfetaminelor stimulante (clasa M) și halucinogene (clasa T), și distingerea acestora de substanțele non-amfetaminice (clasa N).

III. 8. Indicatori de geometrie analitică aplicați pentru evaluarea clasificării PCA a amfetaminelor ilicite

Atribuirea identității de clasă unui compus necunoscut are loc în funcție de clusterul în care se încadrează punctul asociat compusului în reprezentarea scorurilor. De aceea procesul de optimizare a detecției prin preprocesarea spectrelor GC-FTIR cu diverse funcții a urmărit obținerea unor clusterelor cât mai bine definite. Astfel, cu cât clusterelor formate (M, T, N) se află la distanțe mai mari unele de altele în spațiul n -dimensional al componentelor principale (PC), cu atât metoda de detecție este mai selectivă, respectiv probabilitatea apariției falselor pozitive (M sau T) sau a falselor negative (N) este mai mică. În același timp, cu cât fiecare cluster este mai omogen, cu atât sensibilitatea metodei de detecție este mai bună, respectiv probabilitatea clasificărilor corecte (numărul pozitivelor adevărate și a negativelor adevărate) crește.

Pentru obiectivarea și algoritimizarea procesului de evaluare, a fost calculată o serie de indicatori proprii geometriei analitice [36, 37]. Indicatorii caracterizează poziția relativă a clusterelor și densitatea acestora, respectiv:

- coordonatele centrului fiecărui cluster;
- distanțele euclidiene dintre două puncte situate în interiorul unui cluster
- distanța dintre două clusterse vecine a fost determinată ca fiind distanța euclidiană dintre centrele celor două clusterse.
- perimetrul P al poligonului (în cazul nostru al triunghiului) definit de centrele celor trei clusterse.

În concluzie, fiecare funcție de preprocesare conduce la alte avantaje. De aceea am propus o modalitate de evaluare globală a fiecărei metode de optimizare analizate, respectiv caracterizarea detecției printr-un coeficient de optimizare CO care înglobează toți indicatorii analizați anterior pentru caracterizarea calității clusterizării:

$$CO = \sqrt[5]{\frac{1}{\sum R_i} \cdot \frac{1}{\sum D_i} \cdot \frac{1}{\sum L_i} \cdot \sum A_{ij} \cdot P} \quad (\text{III. 2})$$

unde R_i reprezintă raza clusterului i , D_i – dispersia clusterului i , L_i - distanța maximă dintre două puncte situate în același cluster i , A_{ij} - distanța dintre cele mai apropiate două puncte periferice situate în clustersele vecine i și j , iar P - perimetrul (suma distanțelor dintre centrele clusterelor analizate). Rezultatele sunt prezentate în Tabelul III. 1.

Tabelul III. 1. Coeficientului de optimizare CO pentru metodele de optimizare a detecției amfetaminelor analizate

PCA - spectre neprocesate	0,8889
PCA - spectre procesate cu amplificatorul selectiv w	0,9774
PCA - spectre procesate cu amplificatorul selectiv w^2	0,9327
PCA - spectre procesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$	1,2124

Amplificatoarele selective w și w^2 conduc la valori ale CO aproape egale. Acest rezultat indică faptul că avantajul distanțării maxime a clusterelor obținut prin procesarea spectrelor cu w^2 este contrabalansat de avantajul unei dispersări mai mici a clusterelor generat de w . Valoarea maximă a CO se înregistrează pentru selectorul amplificativ $(w-1)^2$. În concluzie, acesta asigură, global vorbind, cea mai bună discriminare și modelare a clusterelor specifice amfetaminelor ilicite analizate [38].

III. 9. Detecția amfetaminelor ilegale bazată pe analiza componentelor principale și analiza discriminantă

Setul de calibrare pentru analiza discriminantă conține 35 de spectre GC-FTIR, dintre care 7 sunt spectrele principalelor amfetamine ilicite stimulante (cod de clasă M), 6 aparțin principalelor amfetamine halucinogene (cod de clasă T), iar 4 sunt efedrine (cod de clasă E). Setul de validare a sistemului discriminant conține spectrele GC-FTIR a 124 de compuși chimici, dintre care 7 sunt amfetamine halucinogene, 8 amfetamine stimulante, 2 efedrine și 107 compuși non-amfetaminici.

Analizele prezentate anterior au evidențiat că cele mai bune rezultate în modelarea și discriminarea amfetaminelor ilicite pe baza spectrelor GC-FTIR prin PCA se obțin folosind reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2. În consecință, analiza discriminantă a fost realizată folosind ca baza de date de intrare scorurile PC1 și PC2 asociate spectrelor GC – FTIR. Analiza discriminantă permite cuantificarea probabilității atribuirii unui obiect (compus chimic) la o clasă individuală (grupul de calibrare) [39].

Modelul de discriminare dezvoltat cu ajutorul setului de calibrare a fost verificat cu ajutorul analizei discriminate pătratică și a setului de validare (vezi figura III. 45b). Rata de clasificare determinată pentru analiza discriminantă pătratică este de 94,44% [40]. Îmbinarea

celor două metode chemometrice au dus la obținerea unei sensibilități în detecția compușilor pozitivi (rata de clasificare corectă a pozitivelor) de 76,47% și o specificitate în recunoașterea negativelor (rata de clasificare corectă a negativelor) de 93,45%.

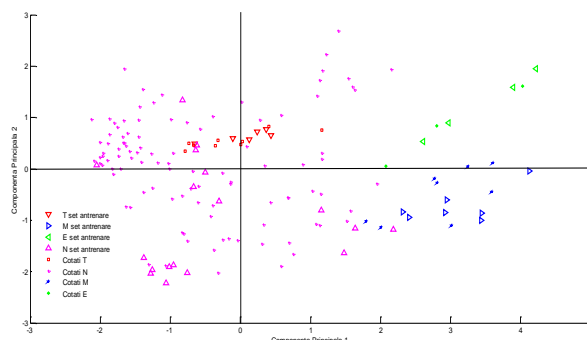


Figura III. 21. Reprezentarea scorurilor asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T), efedrinelor (E) și a negativelor (clasa N): scorurile PC1 vs. scorurile PC2 corespunzătoare setului de calibrare și a celui de validare.

III. 10. Concluzii

Aceast capitol prezintă rezultatele obținute în urma unor analize exploratorii privind posibilitatea detecției automate a principalelor amfetamine stimulante, halucinogene și efedrine controlate și / sau interzise. Metodele se bazează pe analiza spectrelor GC-FTIR a acestor compuși. Deși spectrele vibraționale ale moleculelor mici, așa cum sunt amfetaminele, se modifică substanțial la cele mai mici schimbări ale structurii moleculare, studiile au demonstrat că absorbțiile asociate scheletului molecular comun sunt suficiente de importante pentru ca acești compuși să poată fi modelați în clase bine definite.

Metodele prezentate reprezintă o modalitate eficientă de automatizare a procedurii de screening a probelor confiscate în timpul acțiunilor antidrog. Optimizarea detecției realizate prin PCA este realizată prin preprocesarea spectrelor GC-FTIR din baza spectrală:

PCA – spectre neprocesate

M – sensibil / selectivitate scăzută;
 T – sensibil / selectivitate medie;
 N – sensibilitate scăzută / selectivitate scăzută.

PCA – spectre preprocesate cu amplificatorul selectiv w

M – menține sensibilitatea / selectivitate medie;
 T – menține sensibilitatea / selectiv;
 N – mai sensibil / selectivitate scăzută.

PCA – spectre preprocesate cu amplificatorul selectiv w^2

M – menține sensibilitatea / selectiv;
 T – menține sensibilitatea / selectiv;
 N – sensibil / selectiv.

PCA – spectre preprocesate cu selectorul amplificativ $(w-1)^2$

M – sensibilitate ridicată / selectivitate ridicată;
T – sensibilitate ridicată / selectivitate ridicată;
N – sensibilitate ridicată / o foarte bună selectivitate.

Prin definirea coeficientului de optimizare am putut evalua global și obiectiv metodele de optimizare prezentate. Acesta a indicat faptul că cele mai bune rezultate în identificarea amfetaminelor în funcție de activitatea lor biologică se obțin prin preprocesarea spectrelor cu ajutorul selectorului amplificativ $(w-1)^2$.

Bibliografie

- [1] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, *European drug report 2013*, Lisbon, Portugal, www.emcdda.europa.eu.
- [2] S. Gosav, M. Praisler, *Identificarea automată a amfetaminelor cu rețele neuronale artificiale – studiu comparativ*, Buletinul AGIR, XIII - 3 (2008) p. 12-16.
- [3] www.medallionlabs.com.
- [4] S. Jickells, A. Negrusz, *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*, Pharmaceutical Press, 2008, ISBN 9780853697053.
- [5] M. Praisler, I. Dirinck, J. Van Bocxlaer, A. De Leenheer, D.L. Massart, *Exploratory Analysis for the Automated Identification of Amphetamines from Vapour-Phase FTIR Spectra*, *Analytica Chimica Acta* 404 (2000) p. 303- 317.
- [6] M. Praisler, J. Van Bocxlaer, A. De Leenheer, D. L. Massart, *Automated recognition of ergogenic aids using Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)*, *Turkish Journal of Chemistry*, 26-1 (2002) p. 45-58.
- [7] *Statistics Toolbox 7 User's Guide*, 2010.
- [8] L.G. Apollonio, I.R. Whittall, D.J. Pianca, J.M. Kyd, W.A. Maher, *Matrix effect and cross-reactivity of select amphetamine-type substances, designer analogues, and putrefactive amines using the Bio-Quant direct ELISA presumptive assays for amphetamine and methamphetamine*, *J Anal Toxicol.*, 31-4 (2007) p. 208-13.
- [9] R. A. Lewis, *Lewis' Dictionary of Toxicology*, 1998, CRC Press. pp. 212. ISBN 1-56670-223-2.
- [10] E. Kamhi, *Alternative Medicine Magazine's Definitive Guide to Weight Loss*, 2007, Celestial Arts. p. 14. ISBN 1-58761-259-3.
- [11] A. N. Nicholson, B. M. Stone, M. M. Jones, *Wakefulness and reduced rapid eye movement sleep: Studies with prolintane and pemoline*, *British Journal of Clinical Pharmacology* 10-5 (1980) p. 465–472.
- [12] T. Kuitunen, S. Kärkkäinen, P. Ylitalo, *Comparison of the acute physical and mental effects of ephedrine, fenfluramine, phentermine and prolintane*, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 6-5 (1984) p. 265–270.
- [13] T. E. Jones, R. G. Morris, N. C. Saccoia, D. Thorne, *Dextromoramide pharmacokinetics following sublingual administration*, *Palliative Medicine* 10-4 (1996) p. 313-317.
- [14] A. J. Grace, *Analgesia in terminal malignant disease*, *British Medical Journal* 4-2 (1979) 6185 6333.
- [15] The NIST Chemistry webBook. <http://webbook.nist.gov/chemistry>.
- [16] Chemical Book – Chemical Search Engine. www.chemicalbook.com.
- [17] S. Ciochina, M. Praisler, *Feasibility study regarding the detection and discrimination of amphetamines based on vibrational spectra*, *Proceedings of the International Scientific Workshop "European Union – Space of liberty, Security and Justice"*, Police Academy, Bucharest, 23 May 2013, Ed. Universitara, p. 480 – 490, ISBN 978-606-591-723-1.
- [18] B. G. M. Vandeginste, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, PartB (vol. 20B)*, Elsevier, 1998, ISBN 0-444-82853-2.
- [19] S. Gosav, *Studii privind identificarea amfetaminelor ilicite prin metode spectrale și de inteligență artificială*, Ed. Tehnopress, 2008, ISBN 978-973-702-562-3.
- [20] P. S. Kalsi, *Spectroscopy of organic compounds*, New Age International (P) Ltd, 2004, ISBN 81-224-1543-1.
- [21] L. D. S. Yadav, *Organic Spectroscopy*, Anamaya Publishers, 2005, ISBN 1-4020-2574-2.
- [22] Yong – Cheng Ning, *Interpretation of Organic Spectra*, John Wiley & Sons (Asia), 2011, ISBN 978-0-470-82516-7.
- [23] M. Praisler, S. Ciochina, *Evaluation of selectivity and sensitivity of GC-FTIR absorption for detection of amphetamines*, *Proceedings of the International Scientific Workshop "European Union – Space of liberty, Security and Justice"*, Police Academy, Bucharest, 23 May 2013, Ed. Universitara, p. 410 – 421, ISBN 978-606-591-723-1.

- [24] C. Rose, M. D. Smith, *Mathematical statistics with Mathematica*, Springer-Verlay, 2002, ISBN 0-387-95234-9.
- [25] S. Ciochina, M. Praisler, *Optimized detection of amphetamines based on principal component analysis*, Annals of Constanta Maritime University, Year XIV, 19th issue, Ed. Nautica, Constanța, 2013, p. 223-230, ISSN 1582-3601.
- [26] A. Afifi, S. May, V. Clark, *Practical Multivariate Analysis*, Fifth Edition, CRC Press 2012, ISBN 978-1-4398-1680-6.
- [27] M. Praisler, S. Ciochina, *Selective amplifier used for the efficient detection of amphetamines*, Annals of Constanta Maritime University, Year XIV, 19th issue, Ed. Nautica, Constanța, 2013, p. 231-236, ISSN 1582-3601.
- [28] A. Rinaldo, A. Singh, R. Nugent, L. Wasserman, *Stability of Density-Based Clustering*, Journal of Machine Learning Research 13, 2012, p. 905-948.
- [29] R. Khattree, D. N. Naik, *Multivariate Data Reduction and Discrimination with SAS Software*, SAS Institute Inc, 2000, ISBN 1-58025-696-1.
- [30] L. T. Wille, *New directions in Statistical Physics*, Springer, 2004, ISBN 3-540-43182-9.
- [31] S. Ciochina, M. Praisler, *Optimisation of the multivariate detection of amphetamines by GC-FTIR spectra preprocessing*, acceptat la 17th International Conference on System Theory, Control and Computing – ICSTCC 2013 – IEEE Joint Conference Proceedings, 11-13 October 2013, Sinaia, Romania (Full paper – oral presentation). <http://ace.ucv.ro/icstcc2013/index.php>.
- [32] S. Bandyopadhyay, S. Saha, *Unsupervised Classification*, Springer, 2013, ISBN 978-3-642-32450-5.
- [33] K. H. Esbensen, D. Guyot, L.P. Houmoller, *Multivariate Data Analysis: In Practice: An Introduction to multivariate data analysis and experimental design*, Camo Asa, 2001.
- [34] M. Praisler, S. Ciochina, *Intelligent screening for designer drugs: a signal analysis*, acceptat la 17th International Conference on System Theory, Control and Computing – ICSTCC 2013 – IEEE Joint Conference Proceedings, 11-13 October 2013, Sinaia, Romania (Full paper – oral presentation). <http://ace.ucv.ro/icstcc2013/index.php>.
- [35] S. Ciochina, M. Praisler, *Evaluation of the efficiency of amphetamines detection by cluster analysis*, In Proceedings of The International Conference on INovation and Collaboration in Engineering Research, Second Edition, June 20 – 22, 2013, Bucharest, Romania. p. 85 – 88, ISSN 2344 – 1720, ISSN-L 2344 - 1720 http://www.incer.eu/docs/Proceedings_INCER_2013_WEB.pdf#zoom=100.
- [36] L. Kaufman, P. J. Rousseeuw, *Finding Groups in Data, An Introduction to Cluster Analysis*, John Willey & Sons, 2005, ISBN 0-471-73578-7.
- [37] W. Arendt, W. P. Scleich, *Mathematical Analysis of Evalution, Information, and Complexity*, Wiley – VCH, 2009, ISBN 3527408304.
- [38] M. Praisler, S. Ciochina, *Indicators of analatycal geometry applied for the evaluation of PCA detection of illegal amphetamines*, In Proceedings The International Conference on INovation and Collaboration in Engineering Research, Second Edition, June 20 – 22, 2013, Bucharest, Romania, p. 81 – 84, ISSN 2344 – 1720, ISSN-L 2344 - 1720 http://www.incer.eu/docs/Proceedings_INCER_2013_WEB.pdf#zoom=100.
- [39] T. Hastie, R. Tibshirani, J. Friedman, *The Element of Statistical Learning*, Springer, 2009, ISBN 978-0-387-84857-0.
- [40] S. Ciochina, M. Praisler, *Detection of illegal amphetamines based on principal component analysis and discriminant analysis*, Annals of "Dunarea de Jos" University of Galati, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics, Fascicle II, Year V (XXXVI) 2013, Nos. 1-2 , p. 69 – 76, ISSN 2067-2071.

Capitolul IV

**METODE MULTIVARIATE UTILIZATE ÎN DETECȚIA ȘI IDENTIFICAREA
AMFETAMINELOR ILICITE PE BAZA ABSORBȚIILOR ÎNREGISTRATE ÎN DOMENIUL
SPECTRAL DE EMISIE AL LASERULUI QCL UT8**

IV. 1. Optimizarea detecției amfetaminelor utilizând preprocesarea spectrelor cu amplificatorul selectiv wME

Amfetaminele sunt drogurile care stimulează sistemul nervos central frecvent utilizate de sportivi în diverse competiții, de dependenții de droguri și de consumatorii ocazionali în scop recreativ [1]. Amfetaminele au în scheletul molecular un ciclu aromatic legat la o grupare amino prin intermediul unei catene laterale alifatică la unul sau doi atomi de carbon [2,3]. Activitatea toxicologică și efectul biologic (stimulant și/sau halucinogen) al principalilor analogi ai amfetaminei este direct influențată de modul de substituție al inelului aromatic. Rezultatele obținute sunt cu atât mai importante deoarece s-a utilizat o bază de date spectrală conținând spectrele GC – FTIR ale compușilor studiați înregistrate în regiunea $1405 - 1150 \text{ cm}^{-1}$ (fereastra spectrală UT8) [5-8]. În scopul optimizării detecției și recunoașterii în mod automat a amfetaminelor s-au analizat cazurile cu diverse combinații de grupare a compușilor în clasele I și II de calcul al funcției w . Funcția w a fost calculată folosind în clasa I spectrele compușilor ME (amfetamine stimulante și efedrine), TE (amfetamine halucinogene și efedrine) și respectiv MT (amfetamine stimulante și amfetamine halucinogene). Pentru fiecare combinație, în parte, au fost efectuate analize asupra efectului acestora ca amplificatori selectivi (w și w^2) și respectiv selector multiplicator $(w-1)^2$. Analizele au fost realizate în fiecare caz studiind dispesia scorurilor obținute prin PCA, distribuția densităților estimate pentru fiecare clasă de compuși și respectiv analiza clusterelor. Cele mai bune rezultate au fost obținute în urma preprocesării spectrelor din baza de date cu amplificatorul selectiv wME .

În scopul evaluării eficienței sistemului expert de detecție a amfetaminelor ilicite în funcție de activitatea biologică a acestora prin intermediul PCA, s-au analizat reprezentările scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR preprocesate cu amplificatorul selectiv wME (vezi Figura IV. 1).

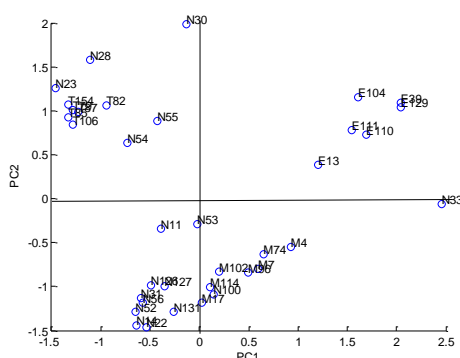


Figura IV. 1. Reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2 asociate spectrelor, preprocesate cu multiplicatorul selectiv wME , amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T), efedrine (clasa E) și a negativelor (clasa N).

Un aspect extrem de important îl putem observa că substanțele selectate se grupează în mod natural în patru cluster distincte, specifice amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene, (clasa T), efedrine (clasa E) respectiv non-amfetaminelor (clasa N). Rezultatul obținut este important, deoarece în baza de date inițială nu au fost introduse informații referitoare la activitatea biologică a compușilor și nici la efectul toxic asociat acestora.

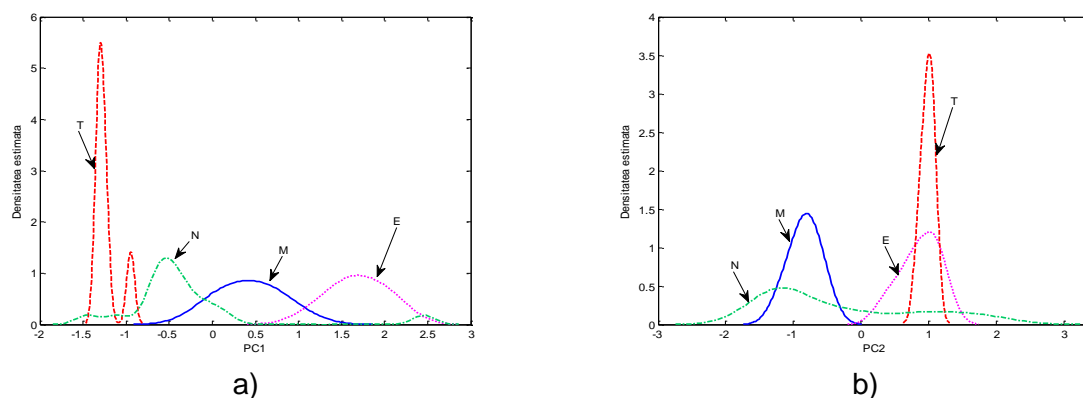


Figura IV. 2. Densitatea estimată pentru scorurile PC1 (a) și respectiv pentru scorurile PC2 (b) asociate amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T), efedrine (clasa E) și a negativilor (clasa N).

Rezultatele obținute în cadrul analizei reprezentării scorurilor sunt susținute și de distribuția densităților estimate a scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR (vezi Figurile IV. 2) [9-11].

Distribuția densității estimate pentru PC1 (vezi Figura IV. 2a) confirmă faptul că amplificatorul selectiv w conduce la o discriminare semnificativă a compușilor pozitivi. De asemenea, distribuția densității estimate pentru PC2 (vezi Figura IV. 2b) arată că sistemul dezvoltat, având la bază această funcție de preprocesare, obține o discriminare bună a amfetaminelor stimulante față de amfetaminele halucinogene și efedrine. În cazul spectrelor preprocesate cu amplificatorul selectiv wME , amfetaminele stimulante formează un cluster mult mai bine definit. Însă, amfetaminele halucinogene (clasa T) au distribuțiile probabilităților suprapuse cu cele ale efedrinelor.

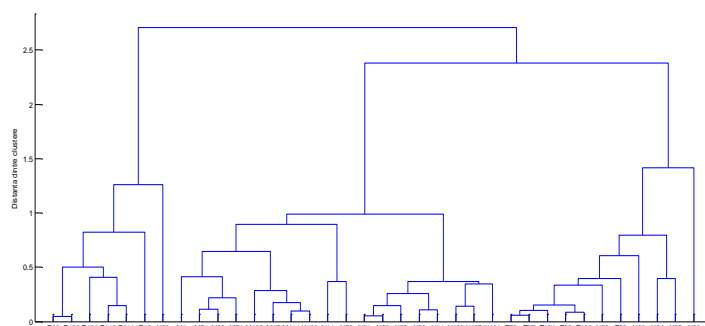


Figura IV. 3. Dendrograma distanțelor dintre scorurile PC1 vs. PC2 asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene (clasa T), efedrinelor (clasa E) și a negativilor (clasa N) în cazul spectrelor preprocesate cu multiplicatorul selectiv wME .

Metoda de detecție analizată, în fereastra spectrală UT8, a reușit să obțină clusterse mai depărtate, vezi figura IV. 3, (selectivitate bună) în spațiul multidimensional și o condensare a punctelor ce formează clusterse (sensitivitate bună) în comparație cu utilizarea spectrelor neprocesate [13,14]. Altfel spus, preprocesarea spectrelor cu amplificatorul selectiv wME mărește distanțele dintre centrele acestor clusterse, dar totodată conduce și la o relativă dispersare a clusterse.

IV. 2. Schema logică a modulelor de identificare / detecție a amfetaminelor ilicite cu ajutorul unui instrument IR portabil în domeniul de emisie al laserului QCL UT8

Metoda de detecție care a înregistrat rezultatele cele mai bune în modelarea și discriminarea amfetaminelor ilicite, în fereastra spectrală UT8, este metoda care utilizează ca date de intrare spectrele compușilor preprocesate cu amplificatorul selectiv wME . Astfel,

această metodă a reușit să indice nu numai similaritatea structurii moleculare a unui compus cu o anumită clasă de substanțe ilicite, dar și mai important, activitatea biologică cea mai probabilă a acestuia. Acest rezultat este extrem de important cu cât în sistem nu au fost introduse elemente privind activitatea biologică a principalilor analogi ai amfetaminelor.

Dacă spectrul compusului necunoscut are valoarea absorbției integrate mai mare decât valoarea prestabilită, atunci se trece la etapa a doua, adică la modulul de identificare [15-19]. Dacă distanța euclidiană dintre spectrul compusului necunoscut și spectrele substanțelor din baza de instruire este mai mică decât valoarea de prag stabilită pentru distanța euclidiană (VPD, eng. *threshold*), atunci sistemul expert afișează numele celui mai apropiat vecin al acestuia [20,21]. Apoi, pentru întărirea rezultatului, sistemul expert, oferă utilizatorului și reprezentarea grafică a spectrului IRAS fitat liniar la cel mai apropiat vecin. Dacă nu, se trece la etapa a treia, adică la atribuirea identității de clasă a compusului necunoscut, bazat pe analiza componentelor principale. Modulul de detecție va afișa ca rezultat, pentru compusul testat, una din clasele: analog al amfetaminei stimulante, analog al efedrinei, analog halucionogen, analog psihedelic, analog halucinogen psihedelic TMA sau negativ.

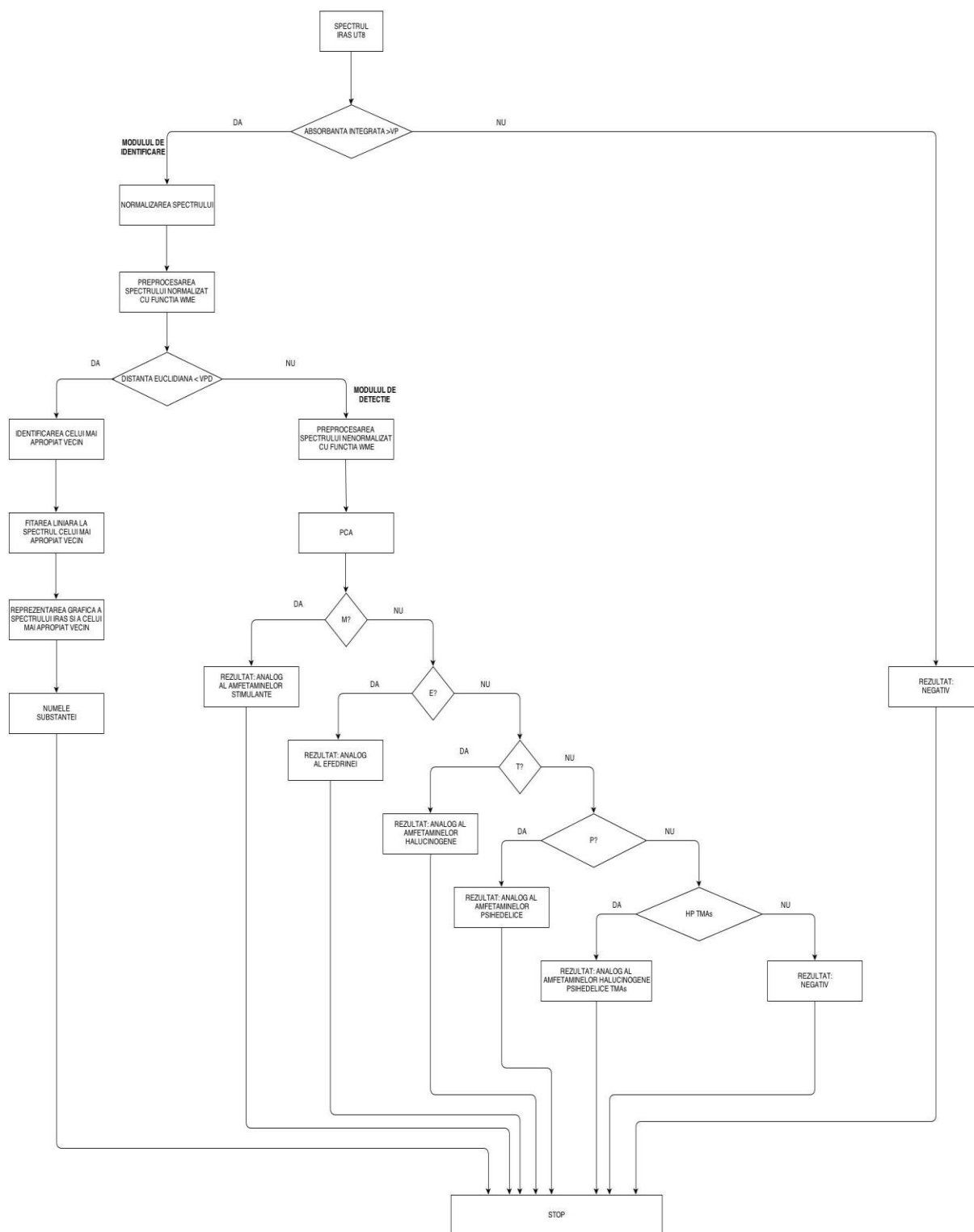


Figura IV. 4. Arborele de decizie utilizat pentru identificarea / detecția unui compus necunoscut cu ajutorul spectrometrului mobil IRAS în fereastra spectrală UT8.

IV. 3. Rezultatele obținute de sistemul expert utilizând absorbțiile obținute cu ajutorul unui instrument IR portabil în fereastra spectrală UT8

În conformitate cu obiectivele asumate, am dorit să contribuim la efortul general privind progresul metodelor analitice ce pot fi aplicate pentru *identificarea / detecția* cât mai rapidă și mai eficientă a substanțelor ilicite noi, similare amfetaminelor și a principalilor precursori a

acestora. Astfel, am dezvoltat un sistem expert care să realizeze detecția și recunoașterea automată a amfetaminelor și a principalilor precursori a acestora cu ajutorul spectrelor GC-FTIR și adaptarea sistemului expert pentru spectrometre GC-FTIR portabile. În acest scop au fost utilizate spectre obținute cu ajutorul unui prototip de spectrometru GC-FTIR portabil, dezvoltat în cadrul proiectului finanțat de Uniunea Europeană FP7 – SEC – 2009 – 242309 DIRAC [7]. Pentru miniaturizare, spectrometrul portabil utilizează ca sursă IR un laser de tip Quantum Cascade Laser (QLC). În fereastra spectrală UT8, laserul emite în domeniul 1405 – 1150 cm^{-1} .

IV. 3. 1. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru benzil metil cetonă

Spectrul benzil metil cetonei obținut cu ajutorul spectrometrului IR portabil a fost testat de sistemul expert dezvoltat. Rezultatul obținut (vezi figura IV. 5) evidențiază numele substanței din baza de instruire a cărei spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Se poate observa că, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul benzil metil cetonei (benzyl methyl ketone). Identificarea obținută pentru compusul testat este cu atât mai importantă cu cât acesta nu a avut aceeași concentrație cu cea a compușilor din baza de instruire. Benzil metil cetona (BMK), important precursor, folosit, ca materie primă, în laboratoarele clandestine pentru fabricarea metamfetaminei și amfetaminei [22,23].

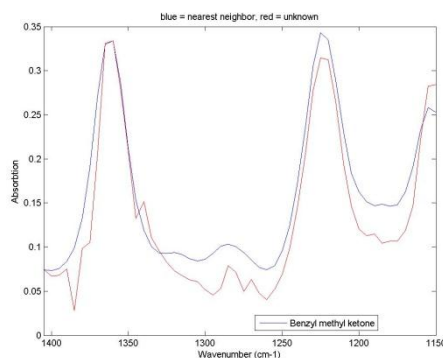


Figura IV. 5. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

IV. 3. 2. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru benzaldehidă

Testarea acestui compus de către sistemul expert a condus la atribuirea identității de clasă a acestuia ca fiind substanță negativă (vezi figura IV. 6). Astfel, se poate observa că punctul asociat compusului testat, în reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2, este situat în clusterul specific compușilor neamfetaminici. Benzaldehida este o aldehydă aromatică utilizată frecvent în produsele cosmetice ca agent de denaturare, sau ca agent aromatizant, și nu în ultimul rând ca un parfum [25,26].

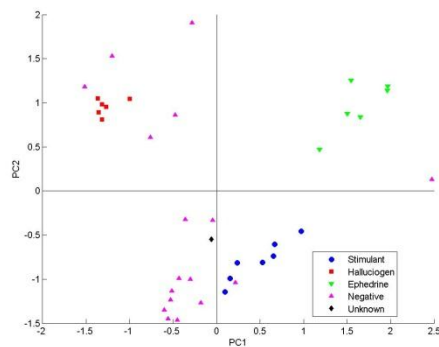


Figura IV. 6. Rezultatul detecției compusului testat de către sistemul expert: negru (scorul PC1 vs. scorul PC2 asociat compusului testat).

IV. 3. 3. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru efedrină

Spectrul efedrinei obținut cu ajutorul instrumentului IR portabil a fost testat de sistemul detecție și recunoaștere automată. În urma testării, rezultatul oferit de sistemul expert (vezi figura IV. 7) oferă numele substanței din baza de instruire a cărei spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Se poate observa că, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul efedrinei (ephedrine). Recunoașterea obținută pentru compusul testat este utilă în a demonstra fiabilitatea și robustețea sistemului expert, deoarece compusul testat nu a avut aceeași concentrație cu cea a compuşilor din baza de instruire. Laboratoarele clandestine utilizează efedrina ca precursor principal, în fabricarea ilegală de amfetamină și metamfetamină [28, 29].

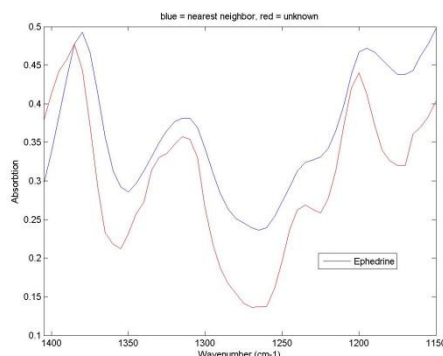


Figura IV. 7. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

IV. 3. 4. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru isosafrol

Spectrul compusului, isosafrol, obținut cu ajutorul spectrometrului IR portabil a fost testat de sistemul expert. În urma testării, rezultatul oferit de sistemul expert (vezi figura IV. 8) oferă utilizatorilor numele compusului din baza spectrală de instruire a cărei spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Astfel, putem observa că, metoda de identificare / detecție dezvoltată în această teză identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul safrolului (safrole). Recunoașterea obținută pentru compusul testat nu este întâmplătoare, deoarece isosafrolul apare ca un artefact, datorită temperaturilor ridicate întâlnite în procesul tehnologic al compuşilor ce conțin safrol [31,32].

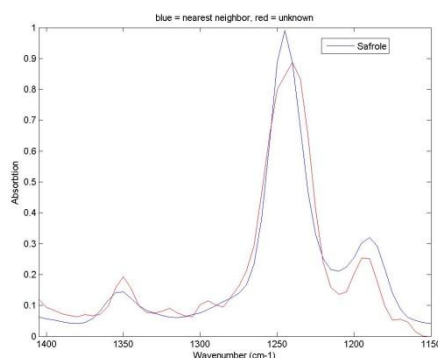


Figura IV. 8. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

IV. 3. 5. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru piperonal

Spectrul piperonalului obținut cu ajutorul spectrometrului IR portabil a fost testat de sistemul expert. În urma testării, rezultatul oferit de sistemul expert (vezi figura IV. 9) pune la dispoziția utilizatorului numele substanței din baza spectrală de instruire a cărui spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Se poate observa că, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul piperonil metil cetona (PMK). Identificarea realizată de sistemul expert pentru compusul testat este foarte importantă, deoarece compusul testat reprezintă principala sursă de sinteză a PMK [33-35].

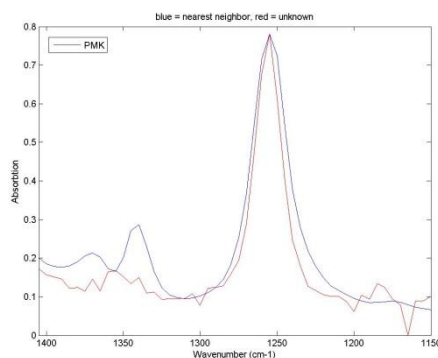


Figura IV. 9. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

IV. 3. 6. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru safrol

Spectrul safrolului obținut cu ajutorul instrumentului IR portabil a fost testat de sistemul de detecție și recunoaștere automată. Sistemul expert ofera utilizatorului (vezi figura IV. 10) numele substanței din baza de instruire a cărui spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Astfel, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul safrolului (safrole). Rezultatul este unul important, deoarece compusul testat nu a avut aceeași concentrație cu cea a compușilor din baza de instruire. Această performanță obținută de sistemul dezvoltat în această teză, evidențiază încă odată robustețea sistemului expert. Safrol reprezintă unul dintre principalii precursori utilizați în producția ilicită de droguri, în special pentru 3,4-metilendioximetamfetamina (MDMA sau ecstasy) [37].

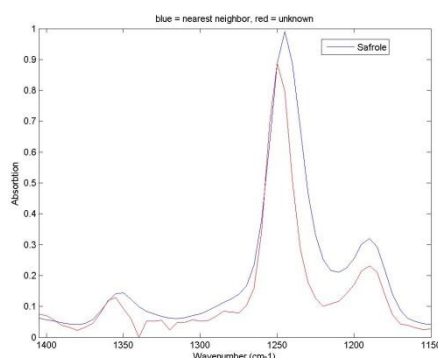


Figura IV. 10. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

IV. 3. 7. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru analogii metamfetaminei

Testarea primului analog, având concentrația cea mai mică, de către sistemul expert a condus la atribuirea identității de clasă a acestuia ca fiind substanță negativă (vezi figura IV. 11). Astfel, se poate observa, în mod cert, că punctul asociat compusului primului analog testat, în reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2, este situat în clusterul specific compușilor neamfetaminici.

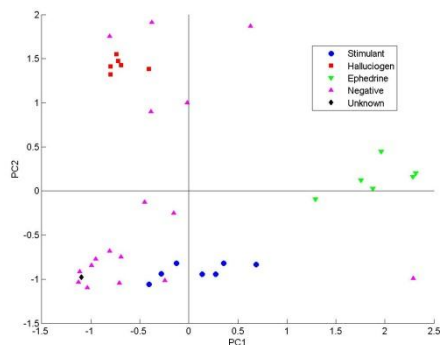


Figura IV. 11. Rezultatul detecției compusului testat de către sistemul expert: negru (scorul PC1 vs. scorul PC2 asociat compusului testat).

Spectrul celui de al doilea analog al metamfetaminei obținut cu ajutorul spectrometrului IR portabil a fost testat de sistemul detecție și recunoaștere automată. În urma testării, rezultatul oferit de sistemul expert (vezi figura IV. 12) oferă numele substanței din baza spectrală de instruire a cărei spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Se poate observa că, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul prolintanului (prolintane). Recunoașterea obținută pentru compusul testat, nu este întâmplătoare, deoarece prolintan este o amină simpatomimetică cu proprietăți farmacologice similare cu cele ale amfetaminei [39].

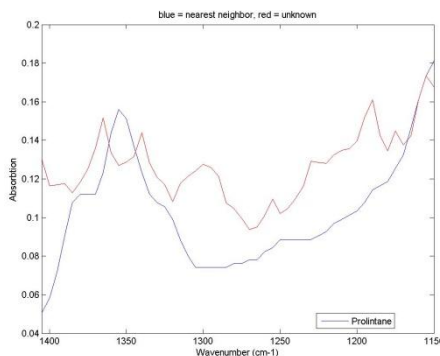


Figura IV. 12. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

Rezultatul testării celui de al treilea analog, cu ajutorul sistemului de detecție și recunoaștere automată (vezi figura IV. 13) oferă utilizatorului numele substanței din baza de instruire a cărei spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Se poate observa că, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul metamfetamina (methamphetamine). Aceste rezultate, obținute în recunoașterea compușilor testați, este utilă în dezvoltarea robusteții sistemului expert, deoarece compușii testați nu au avut aceeași concentrație cu cea a compușilor din baza de instruire.

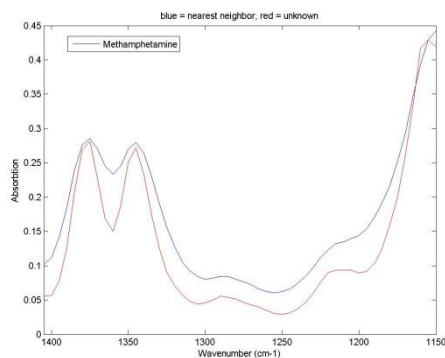


Figura IV. 13. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

IV. 3. 8. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru piperonil metil cetonă

Rezultatul testării acestui analog de către sistemul expert a condus la atribuirea identității de clasă a acestuia ca fiind substanță negativă (vezi figura IV. 14). Astfel, analizând vizual rezultatul oferit de către sistemul de detecție, se poate observa că punctul asociat compusului testat, în reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2, nu aparține niciunui cluster modelat cu compușii din baza spectrală de instruire.

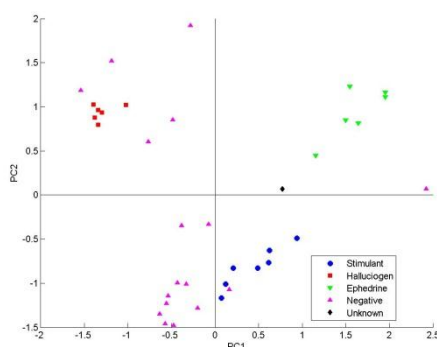


Figura IV. 14. Rezultatul detecției compusului testat de către sistemul expert: negru (scorul PC1 vs. scorul PC2 asociat compusului testat).

IV. 3. 9. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru *street sample*

Substanța confiscată de autoritățile specializate a fost testată de sistemul expert dezvoltat. În urma testării, rezultatul oferit de sistemul expert (vezi figura IV. 15) oferă utilizatorului numele substanței din baza de instruire care are spectrul cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Se poate observa că, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul piperonalului (piperonal). Acest rezultat obținut pentru compusul testat este util, deoarece piperonalul este unul dintre principalii precursori utilizați în sinteza MDMA. Astfel, sistemul expert și-a dovedit fiabilitatea în detecția nu numai a substanțelor în stare pură ci și pentru substanțele similare cu compușii "mamă".

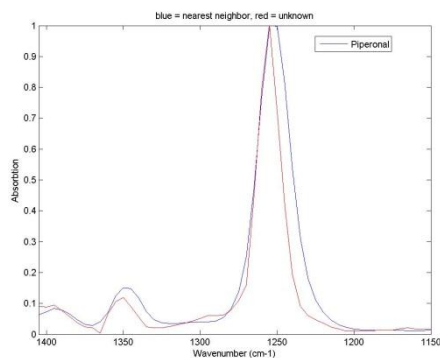


Figura IV. 15. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

IV. 4. Concluzii

Fereastra spectrală UT8 (1405 – 1150 cm^{-1}) este utilă pentru detecția / atribuirea identității de clasă, mai ales pentru analogii efedrinei și analogii amfetaminelor halucinogene. Detecția este atât sensibilă cât și selectivă pentru efedrine și pentru amfetaminele halucinogene. Detecția amfetaminelor stimulante este în primă fază mai dificil de realizat dar, cu preprocesarea spectrelor compușilor din baza de instruire corespunzătoare, rezultatele detecției devin rezonabile pentru această clasă de compuși.

În cazul în care funcția de optimizare w se calculează cu amfetaminele stimulante și efedrinele (M, E) în clasa I și amfetaminele halucinogene împreună cu negativele (T, N) în clasa a II, cele mai bune rezultate sunt obținute cu spectrele preprocesate cu amplificatorul selectiv wME . Clusterul efedrinelor continuă să formeze cel mai bine definit cluster. Amfetaminele halucinogene pot fi, de asemenea, distinse ca un cluster bine pus în evidență. Dar cea mai importantă îmbunătățire a acestei combinații o reprezintă faptul că sistemul expert distinge mult mai bine amfetamine stimulante față de cele negative.

În concluzie, cele mai bune rezultate au fost obținute pentru sistemul de recunoaștere / detecție respectând procedura din figura IV. 4. Sistemul expert a fost testat pentru spectrele IRAS a mai multor compuși pozitivi și negativi, cuprinzând inclusiv un compus confiscat de autoritățile specializate (*street sample*). Rezultatele arată că identitatea lor de clasă a fost atribuită în mod corect.

Bibliografie

- [1] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, *European drug report 2013*, Lisbon, Portugal, www.emcdda.europa.eu.
- [2] S. Gosav, M. Praisler, D.O. Dorohoi, G. Popa, *Structure – Activity Correlations for Illicit Amphetamines using ANN and Constitutional Descriptors*, in *Talanta - The International Journal of Pure and Applied Chemistry*, vol.70, 2006, p. 922-928..
- [3] M. Praisler, I. Dirinck, J. Van Bocxlaer, A. De Leenheer, D. L. Massart, *Computer-aided Screening for Hallucinogenic and Stimulant Amphetamines with Gas Chromatography - Fourier Transform Infrared Spectroscopy (GC - FTIR)*, *Journal of Analytical Toxicology* 25/1 (2001) p. 45-56.
- [4] M. Praisler, L. Frangu, *Exploratory Analysis for the Automated Detection of Amphetamines and of Their Main Precursors*, 2012 16th International Conference on System Theory, Control and Computing – ICSTCC 2012 – IEEE Joint Conference Proceedings, art. no. 6379206, 12-14 October 2012, Sinaia, Romania (Full paper - oral presentation). ISBN 978-606- 834-848-3.
- [5] M. Praisler, I. Dirinck, J. Van Bocxlaer, A. De Leenheer, D. L. Massart, *Computer-aided Screening for Hallucinogenic and Stimulant Amphetamines with Gas Chromatography -*

- Fourier Transform Infrared Spectroscopy (GC - FTIR)*, in Journal of Analytical Toxicology, vol. 25, no. 1, 2001, p. 45-56.
- [6] S.Gosav, R. Dinica, M. Praisler, *Choosing Between GC-FTIR and GC-MS Spectra for an Efficient Intelligent Identification of Illicit Amphetamines*, in Journal of Molecular Structure, vol. 887, no. 1-3, 2008, p. 269-278.
- [7] The DIRAC (rapid screening and identification of illegal Drugs by IR Absorption spectroscopy and gas Chromatography) project webpage. <http://www.fp7-dirac.eu/>.
- [8] Statistics Toolbox 7 User's Guide, 2010.
- [9] A. Rinaldo, A. Singh, R. Nugent, L. Wasserman, *Stability of Density-Based Clustering*, Journal of Machine Learning Research 13, 2012, p. 905-948.
- [10] G. Camps-Valls, J. L. Roho-Alvares, M. Martinez-Ramon, *Kernel Methods in Bioengineering, Signal and Image*, Idea Group Publishing, 2007, ISBN 1-59904-042-5.
- [11] B. W. Silverman, Using Kernel Density Estimates to Investigate Multimodality, Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological), Volume 43, Issue 1 (1981), p. 97-99.
- [12] S. Bergman, The Kernel Function and Conformal Mapping, American Mathematical Society, 2000, ISBN 0-8218-1505-9.
- [13] A. J. Izenman, *Modern Multivariate Statistical, Technication, Regresion, classification, and Manifold Learning*, Springer, 2008, ISBN 978-0-387-78188-4.
- [14] W. Arendt, W. P. Schleich, *Mathematical Analysis of Evolution, Information, and Complexity*, Wiley-YCH, 2009, ISBN 3899634810.
- [15] Diagrams Online. <http://www.draw.io>.
- [16] M. Frențiu, H. F. Pop, *Fundamentals of Programming*, Cluj University Press, 2006, ISBN 973-610-453-2.
- [17] V. Prejmerean, *Fundamentele programării – notițe de curs*, <http://www.cs.ubbcluj.ro/~per/Fp.html>.
- [18] S. Mengali, N. Liberatore, D. Luciani, R. Viola, G. Cardinali, I. Elmi, A. Poggi, S. Zampolli, E. Biavardi, E. Dalcanale, F. Bonadio, O. Delemont, P. Esseiva, and F. S. Romolo, *Rapid screening and identification of illicit drugs by IR absorption spectroscopy and gas chromatography*, Proc. SPIE 8631, p. In press., 2013, Paper n°_ 8631-85.
- [19] S. Mengali, D. Luciani, R. Viola, N. Liberatore, S. Zampolli, I. Elmi, G. Cardinali, A. Poggi, E. Dalcanale, E. Biavardi, P. Esseiva, O. Delemont, F. Bonadio, F. Saverio Romolo, *Toward street detection of amphetamines*, SPIE Newsroom 2013.
- [20] S. M. Palfrey, *Clinical Applications of Capillary Electrophoresis*, Humana Press, 1999. ISBN 0-89603-550-6.
- [21] J. Wu, *Advances in K – means Clustering, A data Mining Thinking*, Springer, 2012, ISBN 978-3-642-29806-6.
- [22] Taj Pharmaceuticals Ltd. *Benzyl methyl ketone*, <http://www.tajapi.com>.
- [23] A. B. E., Theeuwes, A. M. A. Verweij, *Impurities in illicit amphetamine 7. Identification of benzyl methyl ketone phenylisopropylimine and benzyl methyl ketone benzylimine in amphetamine*, Forensic Science International, 1980, 15: 237.
- [25] A. Andersen, *Final report on the safety assessment of benzaldehyde*, Journal Toxicol. 2006, 25 Suppl 1: p. 11-27.
- [26] ChemSpider. *The free chemical database*, www.chemspider.com.
- [27] National Toxicology Program, CASRN: 100-52-7 <http://ntp-server.niehs.nih.gov/>.
- [28] C. Salocks, K. B. Kaley, *Technical Support Document: Toxicology Clandestine Drug Labs/ Methamphetamine, Volume 1, Number 13, Ephedrine and pseudoephedrine*, EPA, Office of Environmental Health Hazard Assessment, www.OEHHA.Ca.Gov.
- [29] D. G. Barcelaux, R. B. Palmer, *Medical Toxicology of drug abuse, synthesized chemicals and Psychoactive Plants*, Wiley, 2012, ISBN 978-0-471-72760-6.
- [30] C. Randall Clark, J. DeRuiter, S. Andurkar, F. Tayler Noggle, *Analysis of 3,4 – Methyleneedioxyphenyl – 2 – Propanone and 3,4 – Methyleneedioxyamphetamine Prepared From Isosafrole*, Journal of Chromatographic science, Vol 32, September 1994, p. 393 – 402.

- [31] European Commission, HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL, *Opinion of the Scientific Committee on Food on Isosafrole*, http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html.
- [32] U. P. Yourspigs, *Complete Book of Ecstasy*, Synthesis Book, Second Edition, 1995.
- [33] U N Office on Drugs and Crime, *Recommended Methods for the Identification and Analysis of Amphetamine, Methamphetamine and their Ringsubstituted Analogues in Seized Materials*, United Nations, New York, 2006.
- [34] U N Office on Drugs and Crime, *Global SMART (Synthetics Monitoring: Analyses, Reporting and Trends) Update*, Volume 7, 2012.
- [35] International Narcotics Control Board, *List of Precursors and chemicals Frequently used in the illicit manufacture of narcotic drugs and psychotropic substances under International Control*, Vienna International Centre P.O. Box 500 1400 Vienna, Austria.
- [36] Education, Chemistry, www.chemistry.about.com.
- [37] DEA. 2009. *Safrole and Sassafras Oil are Used in the Illicit Manufacture of MDMA*. Drug Enforcement Administration. www.deadiversion.usdoj.gov.
- [38] P. M. Thompson, K. M. Hayashi, S. L. Simon, J. A. Geaga, M. S. Hong, Y. Sui, J. Y. Lee, A. W. Toga, W. Ling, E. D. London, *Structural Abnormalities in the Brains of Human Subjects Who Use Methamphetamine*, *The Journal of Neuroscience*, June 30, 2004, 24(26) p 6028–6036.
- [39] P. B. Kyle, W. P. Daley, *Domestic Abuse of the European Rave Drug Prolintane*, *Journal of Analytical Toxicology*, Vol. 31, September 2007, p 415 - 418.

Capitolul V

METODE MULTIVARIATE UTILIZATE ÎN DETECȚIA ȘI IDENTIFICAREA AMFETAMINELOR ILICITE PE BAZA ABSORBȚIILOR ÎNREGISTRATE ÎN DOMENIUL SPECTRAL DE EMISIE AL LĂSERULUI QCL UT7

V. 1. Optimizarea detecției amfetaminelor utilizând preprocesarea spectrelor cu funcția wMT

Amfetaminele sunt droguri sintetice, ușor de sintetizat în laboratoarele clandestine, cu efecte stimulante asupra sistemului nervos central (SNC). Compușii cei mai des întâlniți printre consumatorii de droguri sunt amfetamina și metamfetamina [1,2]. Structura moleculară a metamfetaminei este foarte apropiată de structura moleculară a amfetaminei, însă metamfetamina prezintă efecte mult mai severe asupra sistemului nervos central [3,4]. Astfel, metamfetamina este un drog sintetic cu un potențial ridicat de abuz în rândul consumatorilor și în același timp o provocare pentru specialiști în dezvoltarea unor metode analitice de detecție eficiente a derivaților acestui drog [5]. Optimizarea detecției și recunoașterii a amfetaminelor a fost realizată prin preprocesarea spectrelor inițiale cu o funcție calculată în diverse combinații de grupare a compușilor în clasele I și II [6-9]. Funcția w a fost calculată în două variante de lucru. În prima variantă s-au utilizat 36 de spectre în combinațiile ME (amfetamine stimulante și efedrine), TE (amfetamine halucinogene și efedrine) și respectiv MT (amfetamine stimulante și amfetamine halucinogene). În a doua variantă de lucru s-a utilizat o bază de date conținând 30 de spectre și combinația MT (amfetamine stimulante și amfetamine halucinogene) în clasa I de calcul al funcției w . Pentru fiecare combinație, în parte, au fost efectuate analize asupra efectului acestora ca amplificatori selectivi (w și w^2) și respectiv selector multiplicator $(w-1)^2$. Analizele au fost realizate în fiecare caz studiind dispersia scorurilor obținute prin PCA, distribuția densităților estimate pentru fiecare clasă de compuși și respectiv analiza clusterelor. Cele mai bune rezultate au fost obținute în urma preprocesării spectrelor din baza de date cu amplificatorul selectiv wMT calculat în combinația cu 30 de spectre în baza de date. Baza de date spectrală utilizată în dezvoltarea metodei multivariate de detecție / recunoaștere a

amfetaminelor ilicite, conține spectrele GC – FTIR ale compușilor studiați înregistrate în regiunea 1550 – 1330 cm^{-1} (fereastra spectrală UT7).

Analiza vizuală a reprezentării scorurilor PC1 vs. PC2 indică faptul că, în cazul spectrelor preprocesate cu amplificatorul selectiv *wMT*, clusterelor obținute sunt mai depărtate unele de altele decât în cazul PCA cu spectrele neprocesate (vezi Figura V. 1). Altfel spus, preprocesarea spectrelor inițiale conduce la obținerea unei mai bune selectivități a sistemului în detecția principalilor analogi ai amfetaminei.

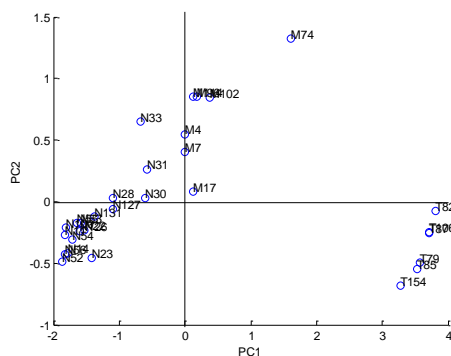


Figura V. 1. Reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2 asociate spectrelor, preprocesate cu multiplicatorul selectiv *wMT*, amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T) și a negativelor (clasa N).

Evaluarea eficienței sistemului expert de detecție, având la bază preprocesarea spectrelor cu amplificatorul selectiv *wMT*, a amfetaminelor ilicite în funcție de activitatea biologică și efectul toxic asociat acestora utilizând PCA, s-a realizat prin analiza dispersiei scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR neprocesate în comparație cu cele obținute cu spectrele preprocesate cu amplificatorul selectiv *wMT*. Un rezultat extrem de important îl putem observa, în ambele cazuri, compușii selectați sunt discriminați în cluster distincte, în mod natural, specifice amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene, (clasa T) respectiv compușilor non-amfetaminici (clasa N).

Observațiile făcute în cadrul analizei dispersiei scorurilor PC1 vs. PC2 sunt susținute și de distribuția densităților estimate a scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR (vezi Figurile V. 2).

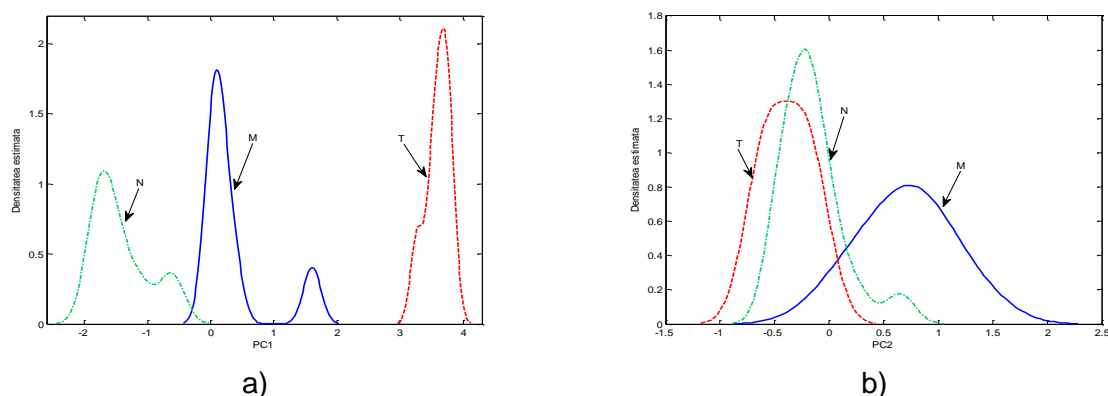


Figura V. 2. Densitatea estimată pentru scorurile PC1 (a) și respectiv pentru scorurile PC2 (b) asociate amfetaminelor stimulante (clasa M), halucinogene (clasa T) și a negativelor (clasa N).

Distribuțiile densităților estimate evidențiază fiabilitatea și sustenabilitatea sistemului de detecție dezvoltat pentru discriminarea compușilor analizați în cluster distincte utilizând combinația scorurilor PC1 vs. PC2 [10-12]. Distribuția densității estimate pentru PC1 confirmă faptul că amplificatorul selectiv *wMT* conduce la o discriminare semnificativă al compușilor din baza de instruire. De asemenea, distribuția densității estimate pentru PC2

(vezi Figura V. 2b) evidențiază că sistemul expert obține o discriminare mult îmbunătățită a amfetaminelor stimulante față de compușii nonamfetaminici.

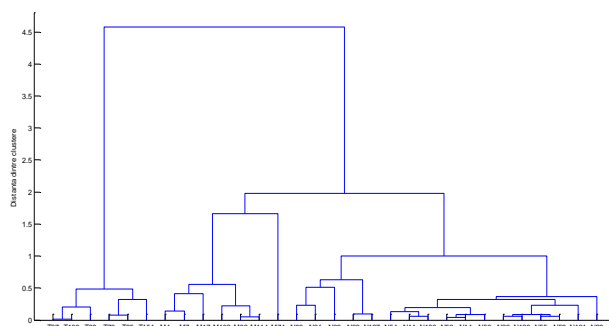


Figura V. 3. Dendrograma distanțelor dintre scorurile PC1 vs. PC2 asociate spectrelor amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene (clasa T) și a negativelor (clasa N) în cazul spectrelor preprocesate cu multiplicatorul selectiv *wMT*.

Calitatea predictivității sistemului de detecție construit a fost evaluată prin intermediul distribuțiilor densităților estimate a scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR. Însă, similaritatea fiecărui compus analizat cu structurile moleculare modelate a fost evaluată prin analiza clusterelor cu ajutorul dendogramelor determinate pe baza scorurilor PC1 și PC2 asociate fiecărui compus analizat [13-15]. Ambele metode analitice reușesc să pună în evidență clusterelor observate în reprezentarea scorurilor asociate spectrelor GC-FTIR, indicând formarea aceluiași trei ramuri (vezi Figura V. 3), asociate amfetaminelor stimulante (clasa M), amfetaminelor halucinogene (clasa T) și non-amfetaminelor (clasa N). Un rezultat important îl reprezintă faptul că, dendogramele nu înregistrează nicio falsă negativă, metoda de detecție fiind foarte selectivă din acest punct de vedere. Acest aspect este deosebit de important în scopul discriminării și modelării substanțelor prohibite (amfetaminele stimulante sunt incluse în lista de substanțe controlate, iar amfetaminele halucinogene fiind substanțe interzise) [16-17].

V. 2. Schema logică a modulelor de identificare / detecție a amfetaminelor ilicite cu ajutorul unui instrument IR portabil portabil în domeniul de emisie al laserului QCL UT7

Sistemul de detecție, dezvoltat în fereastra spectrală UT7 [18,19], care a înregistrat rezultatele cele mai bune în modelarea și discriminarea amfetaminelor ilicite, utilizează ca date de intrare spectrele compușilor preprocesate cu amplificatorul selectiv *wMT* (30 de spectre în baza spectrală, pozitivele M și T în clasa I și negativele în clasa II). Astfel, această metodă a reușit să indice nu numai similaritatea structurii moleculare a unui compus cu o anumită clasă de substanțe ilicite, dar și mai important, efectul toxic asociat acestuia. Acest rezultat este extrem de important cu cât în sistem nu au fost introduse elemente privind activitatea biologică a principalilor analogi ai amfetaminelor.

Dacă spectrul compusului necunoscut are valoarea absorbantei integrate mai mare decât valoarea de prag, atunci se trece la etapa a doua, adică la modulul de identificare. Dacă distanța euclidiană dintre spectrul compusului necunoscut și spectrele substanțelor din baza de instruire este mai mică decât valoarea de prag stabilită pentru distanța euclidiană (VPD, eng. *threshold*), atunci sistemul expert afișează cel mai apropiat vecin al acestuia. De asemenea, trebuie menționat faptul că, distanța euclidiană (dintre spectrul compusului necunoscut și spectrele substanțelor din baza de instruire) se calculează după normalizarea spectrului IRAS și preprocesarea acestuia cu amplificatorul selectiv *wMT*.

Dacă nu, se trece la etapa a treia, adică la atribuirea identității de clasă a compusului necunoscut. Modulul de detecție va afișa ca rezultat, pentru compusul testat, una din clasele: analog al amfetaminei stimulante, analog al efedrinei, analog halucionogen, analog psihedelic, analog halucionogen psihedelic TMAs sau negativ. Pentru fiecare dintre clasele

enumerat mai sus au fost definite limite specifice în funcție de scorurile, PC1 și respectiv PC2, asociate compușilor din baza de învățare.

V. 3. Rezultatele obținute de sistemul expert utilizând spectre obținute cu ajutorul unui instrument IR portabil în fereastra spectrală UT7

Am dezvoltat un sistem expert care să realizeze detecția și recunoașterea automată a amfetaminelor și a principalilor precursori a acestora cu ajutorul spectrelor GC-FTIR și adaptarea sistemului expert pentru spectrometre GC-FTIR portabile. În acest scop au fost utilizate spectre obținute cu ajutorul unui prototip de spectrometru GC-FTIR portabil, dezvoltat în cadrul proiectului finanțat de Uniunea Europeană FP7 – SEC – 2009 – 242309 DIRAC [8]. Pentru miniaturizare, spectrometrul portabil utilizează ca sursă IR un laser de tip Quantum Cascade Laser (QLC). În fereastra spectrală UT7, laserul emite în domeniul 1550 – 1330 cm^{-1}

Spectrele obținute cu acest instrument portabil au fost re-eșantionate în formatul spectrelor din baza de date utilizată în dezvoltarea sistemului expert, pentru care absorbanta a fost măsurată la fiecare 5 cm^{-1} . Astfel, fiecare spectru utilizat în testarea sistemului expert reprezintă un vector cu 45 de componente. Pentru evaluarea robusteții sistemului de detecție și recunoaștere automată, spectrele acestor compuși au fost înregistrate la concentrații diferite față de cele ale compușilor din baza de date de referință.

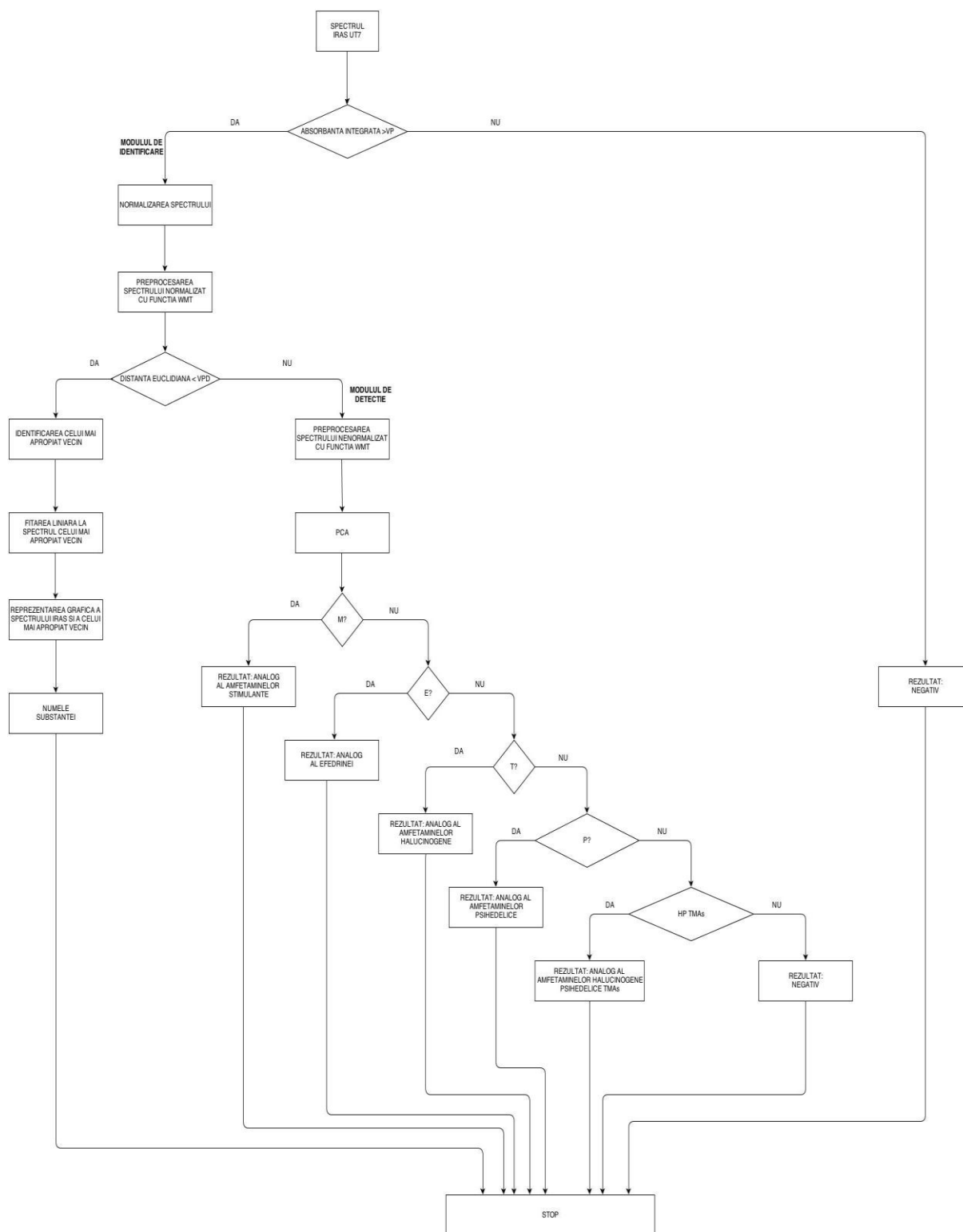


Figura V. 4. Arborele de decizie utilizat pentru identificarea / detecția unui compus necunoscut cu ajutorul spectrometrului mobil IRAS în fereastra spectrală UT7.

V. 4. 1. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru 4 – flor amfetamină

Rezultatul testării acestui analog al amfetaminei de către sistemul expert, dezvoltat în fereastra spectrală UT7, a condus la atribuirea identității de clasă a acestuia ca fiind substanță negativă (vezi Figura V. 5). Astfel, analizând vizual rezultatul oferit de către sistemul de detecție, se poate observa că punctul asociat compusului testat, în

reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2 (punctul de culoare neagră), este poziționat în cadranul III al acestei configurații. Astfel, punctul asociat acestui compus aparține clusterului modelat pentru substanțele neamfetaminice.

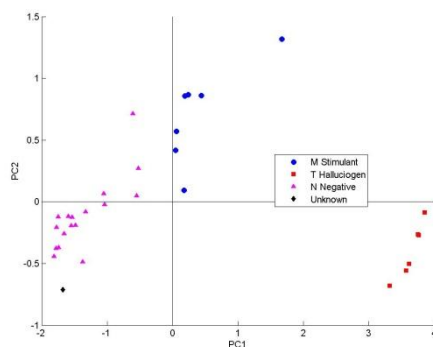


Figura V. 5. Rezultatul detecției compusului testat de către sistemul expert: negru (scorul PC1 vs. scorul PC2 asociat compusului testat).

V. 4. 2. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru amfetamină

Spectrul analogului de amfetamină obținut cu ajutorul instrumentului IR portabil a fost testat de sistemul expert dezvoltat. Rezultatul obținut (vezi figura V. 6) evidențiază numele substanței din baza de instruire a căruia spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Se poate observa că, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul amfetaminei (amphetamine). Identificarea și recunoașterea individuală obținută de sistemul expert pentru compusul testat este cu atât mai importantă cu cât acesta nu a avut aceeași concentrație cu cea a compușilor din baza de instruire. Această recunoaștere contribuie la consolidarea robusteții sistemului expert în identificarea / detecția compușilor necunoscuți. Folosirea acestor analogi în mod abuziv este determinată de efectele stimulante asupra sistemului nervos central pe care aceștia le au [24,25].

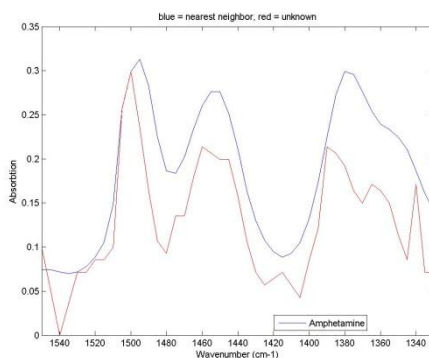


Figura V. 6. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

V.4. 3. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru efedrină

Testarea spectrului acestui compus de către sistemul expert a condus la atribuirea identității de clasă a acestuia ca fiind substanță negativă (vezi figura V. 7). Astfel, analizând vizual rezultatul oferit de către sistemul de detecție, se poate observa că punctul asociat compusului testat, în reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2, aparține clusterului caracteristic compușilor neamfetaminici.

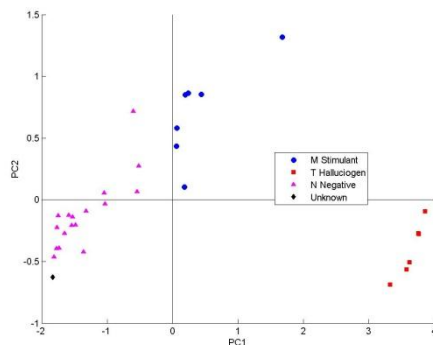


Figura V. 7. Rezultatul detecției compusului testat de către sistemul expert: negru (scorul PC1 vs. scorul PC2 asociat compusului testat).

Reprezentând spectrul efedrinei obținute cu instrumentul IR portabil și spectrul efedrinei din baza de instruire (vezi Figura V. 8), se poate observa o diferență netă în concentrațiile celor doi compuși. Astfel, spectrul compusului testat a reușit să treacă de filtrul referitor la absorbanta integrată și a obținut identitatea de clasă din partea modulului de detecție. Testarea acestui compus, indică o primă direcție de dezvoltare și optimizare a sistemului expert, în sensul atribuirii identității de clasă a compuşilor cu concentrații mici.

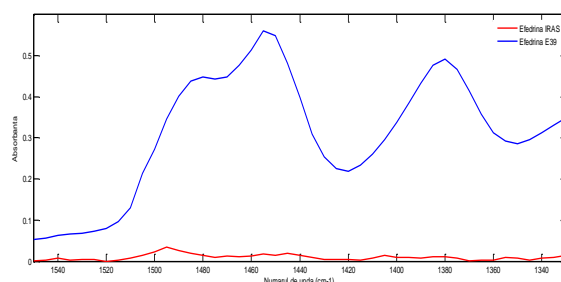


Figura V. 8. Spectrele GC-FTIR ale efedrinei obținute cu instrumentul portabil IRAS (roșu) și efedrina din baza de instruire (albastru)

V. 4. 4. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru 3,4-metilendioximetamfetamina (MDMA)

Rezultatul testării acestui analog al amfetaminelor halucinogene de către sistemul expert a condus la atribuirea identității de clasă a acestuia ca fiind substanță negativă (vezi figura V. 9). MDMA este similar din punct de vedere structural cu metamfetamina și mescalina (vezi figura V. 71) [24], ambele producând efecte halucinogene [27,28]. Analiza vizuală a rezultatului oferit de către sistemul de detecție, ne conduce la concluzia că punctul asociat compusului testat, în reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2, aparține clusterului modelat cu compușii nonamfetaminici.

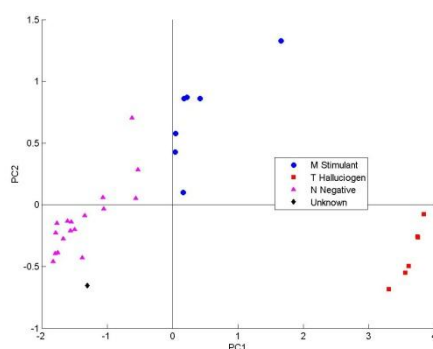


Figura V. 9. Rezultatul detecției compusului testat de către sistemul expert:

negru (scorul PC1 vs. scorul PC2 asociat compusului testat).

Figura V. 10 pune în evidență în spectrul IRAS pentru 3,4-metilendioximetamfetamina (MDMA) existența unui maxim fals în apropierea numărului de undă 1340 cm^{-1} , maxim care nu este prezent în spectrul standard pentru 3,4-metilendioximetamfetamina (culoarea albastră). Acest fals maxim este mai puternic decât banda de absorbție la 1490 cm^{-1} , acesta din urmă fiind cel mai puternic de peak în spectrul standard al MDMA. În consecință, sistemul expert de recunoaștere / detecție a clasificat eronat acest compus.

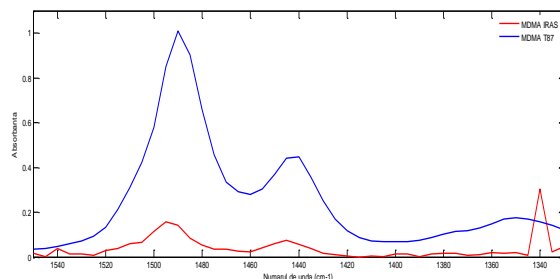


Figura V. 10. Spectrele GC-FTIR ale 3,4-metilendioximetamfetamina obținut cu instrumentul portabil IRAS (roșu) și 3,4-metilendioximetamfetamina din baza de instruire (albastru)

V. 4. 5. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru metamfetamină

Spectrul analogului metamfetaminei obținut cu ajutorul specrometrului IR portabil a fost testat de sistemul expert dezvoltat în fereastra spectrală UT7. Rezultatul obținut (vezi figura V. 11) evidențiază numele substanței din baza de instruire a cărui spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Se poate observa că, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul metamfetaminei (methamphetamine). Rezultatul obținut în recunoașterea compusului testat este foarte important deoarece acesta nu a avut aceeași concentrație cu cea a compușilor din baza de instruire. Există studii de specialitate [29,30] care pun în evidență efectele dezastruase pe care consumul abuziv de metamfetamină îl are asupra activității cerebrale și în special al memoriei utilizatorilor.

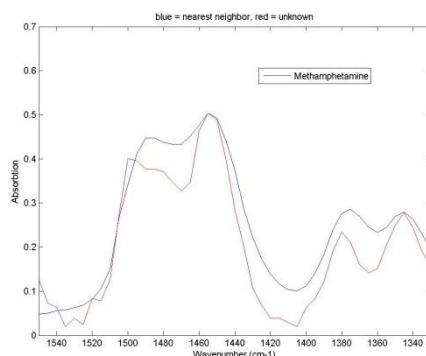


Figura V. 11. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

V. 4. 6. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru piperonil metil cetonă

Rezultatul testării acestui precursor de către sistemul de identificare / detecție a condus la atribuirea identității de clasă a acestuia ca fiind substanță negativă (vezi figura IV. 12). Astfel, analizând vizual rezultatul oferit de către sistemul de detecție, se poate observa că punctul asociat compusului testat, în reprezentarea scorurilor PC1 vs. PC2, se găsește în cadranul III al acestei reprezentări. Poziționarea punctului asociat precursorului testat în apropierea clusterului specific compușilor nonamfetaminici din baza spectrală de instruire a condus sistemul expert în atribuirea rezultatului afișat.

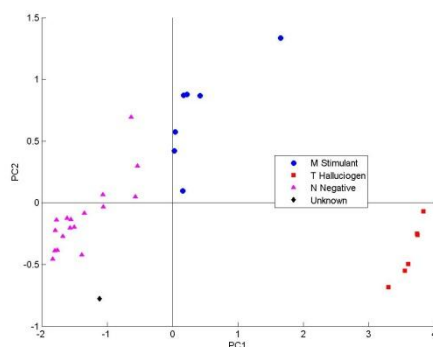


Figura V. 12. Rezultatul detecției compusului testat de către sistemul expert: negru (scorul PC1 vs. scorul PC2 asociat compusului testat).

V. 4. 7. Rezultatul obținut de sistemul expert pentru propiofenonă

Spectrul analogului de propiofenonă obținut cu ajutorul instrumentului IR portabil a fost testat de sistemul expert dezvoltat. Rezultatul obținut (vezi figura V. 13) oferă utilizatorului numele compusului din baza spectrală de instruire a cărui spectru este cel mai apropiat de spectrul compusului testat. Se poate observa că, sistemul identifică ca cel mai apropiat vecin spectrul propiofenonei (propiofenone). Identificarea obținută pentru compusul testat este remarcabilă, deoarece compusul testat nu a avut aceeași concentrație cu cea a compușilor din baza de instruire. Conform unor descrieri ale efectelor analogilor propiofenonei asupra utilizatorilor, se pare că au efecte similare cu cele ale psihostimulatoarelor, amfetamine, din cauza similitudinii structurilor moleculare ale acestora (vezi Figura V. 78) [32-34].

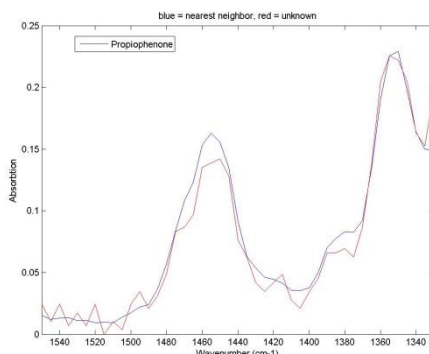


Figura V. 13. Rezultatul identificării compusului testat de către sistemul expert: roșu (spectrul compusului testat), albastru (cel mai apropiat vecin identificat în baza de instruire).

V. 5. Concluzii

Fereastra spectrală UT7 (1550 – 1330 cm^{-1}) s-a dovedit a fi foarte utilă în recunoașterea și/sau detecția (atribuirea identității clasă) atât pentru amfetaminele stimulante (clasa M) cât și pentru amfetaminele halucinogene (clasa T). Astfel, sistemul expert a obținut o clusterizare a compușilor modelați mult mai bună decât în cazul utilizării ferestrei spectrale UT8. Detecția obținută este atât sensibilă cât și selectivă pentru ambele tipuri de amfetamine (stimulante / halucinogene). În cazul compușilor halucinogeni, probabilitatea de a înregistra ca rezultat o falsă pozitivă sau o falsă negativă este foarte scăzută. În prima etapă a studiului de fezabilitate, efedrinele s-au dovedit dificil de modelat din punctul de vedere al discriminării față de amfetaminele stimulante. Cu toate acestea, utilizând o preprocesare corespunzătoare a datelor, rezultatele obținute în recunoașterea / detecția acestor compuși este rezonabilă.

Dacă funcția de optimizare w se calculează cu amfetaminele stimulante și amfetaminele halucinogene (M, T) în clasa I și clasa a II – a, negativele, cele mai bune rezultate se obțin cu amplificator selectiv wMT . Toate cele trei categorii de compuși vizate sunt foarte bine definite ca clustere distincte.

În concluzie, cele mai bune rezultate au fost obținute pentru sistemul de recunoaștere / detecție respectând procedura din figura V. 4 Sistemul expert a fost testat pentru spectrele IRAS a mai multor compuși pozitivi și negativi. Rezultatele arată că identitatea lor de clasă a fost atribuită în mod corect. Cu toate acestea, au existat și diferențe între spectrele standard și spectrul IRAS datorită cărora sistemul expert a obținut un rezultat eronat (existența unei fluctuații spectrale în cazul spectrului de 3,4-metilendioximetamfetamină). Soluția optimă pentru a îmbunătăți eficiența identificare / detecției o reprezintă includerea spectrelor IRAS a compușilor testați în baza de date spectrale de instruire.

Bibliografie

- [1] www.usa.siemens.com/diagnostics.
- [2] Education. Chemistry. <http://chemistry.about.com>.
- [3] Cody J. I., *Detection of d,l-amphetamine, d,l-methamphetamine and illicit amphetamine analogs using Diagnostic Products Corporation amphetamine and methamphetamine radioimmunoassays*, Journal Anal. Toxicol 1990, 14: p. 321-324.
- [4] E. Freye, J. V. Levy, *Pharmacology and Abuse of Cocaine, Amphetamines, Ecstasy and Related Designer Drugs*, Springer, 2009, ISBN 978-90-481-2447-3.
- [5] K. M. Kuczkowski, J. L. Benumof, *Amphetamine abuse in pregnancy: anesthetic implications*, Acta Anaesth. Belg, 2003, 54, 161 – 162.
- [6] S. Gosav, M. Praisler, J. Van Bocxlaer, A. P. De Leenheer, D. L. Massart, *Class identity assignment for amphetamines using neural networks and GC-FTIR data*, Spectrochimica Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 64 (2006) 1110 – 1117. DOI: 10.1016/j.saa.2005.11.033.
- [7] S. Gosav, M. Praisler, D. O. Dorohoi, G. Popa, *Automated identification of novel amphetamines using a pure neural network and neural networks coupled with principal component Analysis*, Journal of Molecular Structure, 744-747 (2005) 821-825. DOI:10.1016/j.molstruc.2004.11.049.
- [8] The DIRAC (rapid screening and identification of illegal Drugs by IR Absorption spectroscopy and gas Chromatography) project webpage. <http://www.fp7-dirac.eu/>.
- [9] Statistics Toolbox 7 User's Guide, 2010.
- [10] D. Scott, *Multivariate Density Estimation*, Wiley, 1992, ISBN 978-0471547709.
- [11] B. W. Silverman, *Density Estimation for Statistics and Data Analysis*, Chapman & Hall, 1986, DOI: 10.1002/bimj.4710300745.
- [12] B. J. Worton, *Kernel Methods for Estimating the Utilization Distribution in Home – Range Studies*, Ecology, Volume 70, 1989, p. 164 - 168.
- [13] J. W. Gardner, *Detection of Vapours and Odours from a Multisensor Array Using Pattern Recognition Part 1. Principal Component and Cluster Analysis*, Sensors and Actuators B, 4, 1991, p. 109-115.
- [14] A. Ben-Hur, I. Guyon, *Detecting stable clusters using principal component analysis*, In Functional Genomics: Methods and Protocols. M.J. Brownstein and A. Kohodursky (eds.) Humana press, 2003 p. 159-182.
- [15] A. Abraham, A. E. Hassaniien, V. Snasel, *Foundation of Computational Intelligence*, volume 5, Springer, 2009.
- [16] Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, *PCA Evaluation of Quantum Cascade Lasers as Radiation Sources for Portable IRAS Systems Detecting Amphetamines*, acceptat la IEEE International Conference on e-Health and Bioengineering - EHB 2013, 21-23 November 2013, Iasi, Romania (Full paper – oral presentation). <http://www.ehbconference.ro/>.
- [17] Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Pattern Recognition Techniques Applied for the Detection of Amphetamines Based on Infrared Laser Spectroscopy*, acceptat la IEEE

International Conference on e-Health and Bioengineering - EHB 2013, 21-23 November 2013, Iasi, Romania (Full paper – oral presentation). <http://www.ehbconference.ro/>.

[18] Diagrams Online. <http://www.draw.io>.

[19] A. B. Chaudhuri, *The Art of Programming Through Flowcharts & Algorithms*, Firewall Media, 2005, ISBN 81-7008-779-1.

[20] S. S. Johansen, T. M. Hansen, *Isomers of fluoroamphetamines detected in forensic cases*

in Denmark, Int J Legal Med (2012) 126: p. 541–547.

[21] P. Rosner, B. Quednow, U. Girreser, T. Junge, *Isomeric Fluoro-methoxy-phenylalkylamines: a new series of controlled-substance analogues (designer drugs)*, Forensic Science International 148 (2005) p. 143–156.

[22] F. Nagai, R. Nonaka, K. Satoh, H. Kamimura, *The effects of non-medically used psychoactive drugs on monoamine neurotransmission in rat brain*, European Journal of Pharmacology (2007) doi:10.1016/j.ejphar.2006.11.075.

[23] A. Camilleri, M. R. Johnston, M. Brennan, S. Davis, D.G.E. Caldicott, *Chemical analysis of four capsules containing the controlled substance analogues 4-methylmethcathinone, 2-fluoromethamphetamine, a-phthalimidopropiophenone and N-ethylcathinone*, Forensic Sci. Int. (2010), doi:10.1016/j.forsciint.2009.12.048

[24] Scientific Working Group Drugs (SWGDRUG), Drugs Enforcement Agency United States, <http://www.swgdrug.org/tools.htm>.

[25] R. C. Pierce, P. W. Kalivas, *A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants*, Brain Research Reviews 25 (1997), p. 192–216.

[26] A. Astrup, L. Breum, S. Toubro, *Pharmacological and Clinical Studies of Ephedrine and Other Thermogenic Agonists*, Obesity Research Vol. 3 Suppl. 4 Nov. 1995, p. 538 - 540.

[27] A. C. Parrott, J. Lasky, *Ecstasy (MDMA) effects upon mood and cognition: before, during and after a Saturday night dance*, Psychopharmacology (1998) 139, p. 261.268.

[28] U. D. McCann, Z. Szabo, U. Scheffel, R. F. Dannals, G. A. Ricaurte, *Positron emission tomographic evidence of toxic effect of MDMA ("Ecstasy") on brain serotonin neurons in human beings*, The Lancet, Vol 352, October 31, 1998, p. 1433 – 1437 .

[29] S. L. Simon, C. Domier, J. Carnell, P. Brethen, R. Rawson, W. Ling, *Cognitive Impairment in Individuals Currently Using Methamphetamine*, The American Journal on Addictions 9:222-231, 2000.

[30] J. R. Monterosso, A. R. Aron, X. Cordova, J. Xu, E. D. London, *Deficits in response inhibition associated with chronic methamphetamine abuse*, Drug and Alcohol Dependence 79 (2005), p. 273–277.

[31] G. Fowler, S. Kinner, L. Krenske, *Containing ecstasy: analytical tools for profiling an illegal drug market*, National Fund (NDLERF), 2007.

[32] Emerging Drugs, Clinical Committee reports, <http://www.pnsd.mpsi.es>.

[33] R. M. Manih, B. Myrboh, *Synthesis of functionalized diaryl alkenes from aziness*, Indian Journal of Chemistry, Vol 48b, 2009, p. 146 - 151.

[34] R. F. Staack, H. H. Maurer, *Metabolism of designer drugs of abuse*, Current Drug Metabolism 2005;6:259-74.

Capitolul VI

CONCLUZII GENERALE, CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI PERSPECTIVE VIITOARE DE CERCETARE

VI. 1. Concluzii generale

Cercetarea realizată în cadrul tezei de doctorat, *Metode multivariate pentru identificarea amfetaminelor cu ajutorul unui sistem IR portabil*, a analizat posibilitatea obținerii unui sistem expert, fezabil și robust, având la bază metode chemometrice

multivariate, utilizat în identificarea / detecția principalilor analogi ai amfetaminelor ilicite. Motivația alegerii acestei teme de cercetare a avut la bază pe de o parte efectele dezastruase pe care acești compuși le au asupra consumatorilor, iar pe de altă parte, posibilitatea valorificării tehnicilor și procedurilor computaționale avansate de prelucrare a datelor experimentale în dezvoltarea unui sistem de detecție automatizat.

Din studiul prezentat, în teză, se pot formula următoarele concluzii generale:

Dezvoltarea sistemului expert pentru spectrometrele GC-FTIR fixe, a avut ca premise rezultatele obținute în cadrul unei analize exploratorii privind posibilitatea de detecție și recunoașterea identității de clasă în mod automat a principalelor amfetamine stimulante și halucinogene controlate și / sau interzise. Rezultatele acestei analize exploratorii au demonstrat că absorbțiile asociate scheletului molecular comun amfetaminelor ilicite sunt suficient de importante pentru ca acești compuși să poată fi modelați și discriminați în clustere bine definite. Acest rezultat important a indicat ca o posibilă aplicație de inteligență artificială construită pentru detecția amfetaminelor pe baza spectrelor GC-FTIR poate rula rapid și cu resurse reduse de tehnică de calcul, inclusă în arhitectura instrumentelor GC-FTIR mobile, care necesită o miniaturizare a componentelor.

Optimizarea și îmbunătățirea rezultatelor obținute în detecția automată a principalilor analogi ai amfetaminelor s-a realizat prin preprocesarea spectrelor din baza spectrală cu doi amplificatori selectivi, w și w^2 , precum și un selector multiplicativ, $(w-1)^2$. Folosirea acestor metode de optimizare a dus la îmbunătățirea selectivității sistemului de detecție în atribuirea identității de clasă a compușilor pozitivi, precum și a sensibilității în recunoașterea negativelor. Astfel, metodele de optimizare a detecției amfetaminelor au obținut probabilități de clasificare eronate din ce în ce mai mici.

Analiza componentelor principale, metodă multivariată de cunoaștere a clusterelor nesupravegheată, nu reușește să definească granițe la clusterelor discriminate și modelate. Astfel, analiza componentelor principale în sine nu a permis evaluarea cu rigurozitate și obiectivitate a sensibilității și / sau selectivității atribuirii identității de clasă, respectiv a numărului de false pozitive corespunzător fiecăreia din clasele (clusterelor) modelate. Eficiența obținută de sistemul de detecție a fost evaluată cu ajutorul dendrogramelor obținute prin analiza clusterelor și prin analiza distribuției densităților estimate. Densitățile estimate pentru fiecare componentă principală în parte a fost calculate cu ajutorul unei funcții kernel normale.

Pentru că fiecare funcție de preprocesare utilizată în optimizarea rezultatelor obținute în detecția amfetaminelor ilicite a condus la alte avantaje am propus o modalitate de evaluare globală fiecărei metode de optimizare analizate. Astfel, am definit expresia de calcul a unui coeficient de optimizare CO care înglobează indicatori ce caracterizează selectivitatea și sensibilitatea fiecărei metode individual. Sensibilitatea a fost evaluată prin indicatori de geometrie analitică care exprimă densitatea unui cluster, iar selectivitatea prin indicatori care caracterizează gradul de separare a clusterelor.

Toate studiile realizate au indicat faptul că cele mai bune rezultate în identificarea / recunoașterea identității de clasă a analogilor de amfetamină în funcție de activitatea lor biologică și efectul toxic asociat se obțin prin preprocesarea spectrelor GC-FTIR cu ajutorul selectorului amplificativ $(w-1)^2$. Această metodă de optimizare păstrează selectivitatea generată de preprocesarea spectrelor cu amplificatorul selectiv w^2 , dar, în același timp maximizează și sensibilitatea sistemului de detecție dezvoltat.

O altă aplicație de inteligență artificială a fost dezvoltată pentru clasificarea automată a amfetaminelor ilicite halucinogene, a celor stimulante și a principalilor precursori ai acestora, respectiv a efedrinelor având la bază îmbinarea unei tehnici nesupravegheate de cunoaștere a formelor (PCA) și una supravegheată de recunoaștere a acestora, respectiv DA. Rezultatele obținute, cu această metodă, au arătat că prin combinarea PCA și DA se pot obține rezultate bune în recunoașterea amfetaminelor în funcție de activitatea lor biologică. Astfel, s-a putut distinge între amfetaminele stimulante, cele halucinogene și efedrine (care sunt tot stimulante ale CNS, efectul lor fiind însă semnificativ mai slab decât cel al amfetaminelor).

Sistemul expert a fost adaptat pentru spectrometrele portabile GC-FTIR. În acest scop au fost utilizate spectre obținute cu ajutorul unui prototip de spectrometru GC-FTIR

portabil, dezvoltat în cadrul proiectului finanțat de Uniunea Europeană FP7 – SEC – 2009 – 242309 DIRAC. Pentru miniaturizare, spectrometrul portabil utilizează ca sursă IR un laser de tip Quantum Cascade Laser (QLC). În prezent, sunt testați doi laseri care emit în domeniul $1550\text{-}1330\text{ cm}^{-1}$ (fereastra spectrală UT7) și în domeniul $1405\text{ – }1150\text{ cm}^{-1}$ (fereastra spectrală UT8). Spectrele obținute au fost reeșantionate în formatul spectrelor din baza de date spectrală inițială, iar pentru evaluarea robusteții și fezabilității sistemului expert, spectrele acestor compuși au fost înregistrate la concentrații diferite față de cele ale compușilor din baza de date de referință.

În vederea îmbunătățirii rezultatelor obținute în detecția amfetaminelor ilicite utilizând cele două ferestre spectrale au fost analizate și interpretate rezultatele mai multor metode de optimizare a detecției, precum și mai multe posibilități de construcție a bazelor de instruire pentru analizele exploratorii.

Metoda de detecție cu rezultatele cele mai bune în fereastra spectrală UT8 s-a dovedit a fi metoda care utilizează spectrele preprocesate cu amplificatorul selectiv *wME*. Astfel, sistemul expert dezvoltat, având la bază această metodă, a reușit să indice nu numai similaritatea structurii moleculare a unui compus cu o anumită clasă de substanțe ilicite, dar și mai important, activitatea biologică cea mai probabilă a acestuia.

Metoda de detecție cu rezultatele cele mai bune în fereastra spectrală UT7 s-a dovedit a fi metoda care utilizează spectrele preprocesate cu amplificatorul selectiv *wMT*. Sistemul expert, având la bază metode de inteligență artificială, a obținut rezultate remarcabile în discriminarea compușilor analizați. Cel mai important efect pozitiv al acestui sistem de detecție este creșterea semnificativă a sensibilității și selectivității în discriminarea negativelor.

Metodele chemometrice, de inteligență artificială, au stat la baza dezvoltării unui executabil (specific ferestrelor UT7 și respectiv UT8) utilizat în testarea automată a spectrelor GC-FTIR a compușilor necunoscuți. Executabilul a integrat module de identificare, detecție și selecție (absorbanța integrată) a amfetaminelor ilicite. Conversia codului sursă *Matlab* într-un program executabil am realizat-o în scopul optimizării timpului de compilare și a memoriei ocupate de aplicație.

Cu ajutorul sistemului expert, astfel construit, au fost testați 11 compuși necunoscuți în fereastra spectrală UT8 și respectiv 7 compuși necunoscuți în fereastra spectrală UT7. Rezultatele obținute au evidențiat faptul că sistemul expert are capacitatea de a clasifica corect principalii precursori ai amfetaminelor chiar dacă aceștia au concentrații diferite față de cele ale substanțelor din baza de date de referință.

Printre avantajele și performanțele sistemului expert dezvoltat în această teză se numără: automatizarea procesului de detecție și recunoașterea clasei de substanțe căreia îi aparține compusul analizat într-un timp foarte scurt (secunde); operarea detecției cu o sensibilitate și o selectivitate maximă chiar și în condiții de variație a concentrației probelor; orientarea analistului spre analize ulterioare bine definite rezultând în acest mod o economie de resurse analitice și umane importante; reducerea semnificativă a timpului necesar pentru comunicarea rezultatului către autoritățile autorizate în domeniu; sistemul expert este adecvat pentru operarea pe spectrometre portabile cu performanțe optime pentru o gama largă de concentrații.

VI. 2. Contribuții personale

În studiile realizate în cadrul tezei de doctorat, *Metode multivariate pentru identificarea amfetaminelor cu ajutorul unui sistem IR portabil*, s-au conturat o serie de contribuții personale:

Studiile realizate în prezenta teză de doctorat sunt caracterizate printr-o abordare modernă și interdisciplinară, focalizate pe optimizarea continuă a rezultatelor obținute de metodele de detecție analizate.

Realizarea unui amplu set de studii prin metode chemometrice multivariate în vederea identificării metodelor optime a fi utilizate în detecția / recunoașterea identității de clasă a

principalilor analogi ai amfetaminelor ilicite. Cercetarea științifică din teză este desfășurată în cadrul proiectului finanțat de Uniunea Europeană FP7 – SEC – 2009 – 242309 DIRAC.

Utilizarea distribuțiilor densităților estimate în argumentarea evaluărilor privind modelarea și discriminarea în clustere distincte a principalilor analogi ai amfetaminelor.

Definirea expresiei unui coeficient de optimizare, care a permis evaluarea globală a metodelor de optimizare analizate. Acesta indicând faptul că cele mai bune rezultate în identificarea amfetaminelor în funcție de activitatea lor biologică se obțin prin preprocesarea spectrelor GC-FTIR cu ajutorul selectorului amplificativ $(w-1)^2$.

Utilizarea spectrelor GC – FTIR ale compușilor înregistrate în regiunea 1550 – 1330 cm^{-1} (fereastra spectrală UT7) și regiunea 1405 – 1150 cm^{-1} (fereastra spectrală UT8) în dezvoltarea sistemului expert utilizat în identificarea / detecția amfetaminelor ilicite.

Dezvoltarea a două executabile, IRAS_DATA_ANALYSIS_UT7 și IRAS_DATA_ANALYSIS_UT8, pentru identificarea / detecția / recunoașterea identității de clasă a compușilor testați cu un instrument IR portabil.

Interpretarea rezultatelor finale obținute, rezultate care validează ipotezele de lucru și în același timp fezabilitatea și robustețea sistemului expert dezvoltat.

VI. 3. Perspective viitoare de cercetare

Rezultatele obținute în urma cercetărilor efectuate deschid calea spre o diversificare a metodelor multivariate utilizate în identificarea și/sau detecția amfetaminelor ilicite.

Preocuparea continuă privind optimizarea identificării / detecției sistemului expert prin îmbogățirea bazei de instruire utilizată de sistemul de detecție.

O perspectivă interesantă de analizat și dezvoltat în viitor este oferită de rezultatele obținute în această teză referitoare la posibilitatea discriminării în clustere distincte a compușilor halucinogeni de tipul 2,5-dimetoxi și respectiv 3,4,5-trimetoxi.

Optimizarea rezultatelor obținute de sistemul expert în cazul compușilor a căror spectre au fost înregistrate pentru concentrații mici.

Utilizarea rezultatelor din această cercetare în dezvoltarea unor metode de identificare și/sau detecție cu o selectivitate și sensibilitate mult mai ridicate.

Creșterea predictibilității în recunoașterea identității de clasă a sistemului expert prin luarea în considerare a timpilor de eluție a fiecărui compus din baza de instruire individual.

Listă lucrări publicate și prezentate

Articole publicate în reviste de specialitate sau conferințe internaționale cotate ISI

1. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Evaluation of the efficiency of amphetamines' detection by Cluster analysis*, depus pentru publicare la U.P.B. Sci. Bull. Series A - Applied Mathematics and Physics. ISSN 1223-7027 Factor de impact 0.19.
2. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Optimisation of the multivariate detection of amphetamines by GC-FTIR spectra preprocessing*, acceptat la 17th International Conference on System Theory, Control and Computing – ICSTCC 2013 – IEEE Joint Conference Proceedings, 11-13 October 2013, Sinaia, Romania (Full paper - oral presentation). <http://ace.ucv.ro/icstcc2013/index.php>.
3. Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, *Intelligent screening for designer drugs: a signal analysis*, acceptat la 17th International Conference on System Theory, Control and Computing – ICSTCC 2013 – IEEE Joint Conference Proceedings, 11-13 October 2013, Sinaia, Romania (Full paper – oral presentation). <http://ace.ucv.ro/icstcc2013/index.php>.
4. Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, *PCA Evaluation of Quantum Cascade Lasers as Radiation Sources for Portable IRAS Systems Detecting Amphetamines*, acceptat la IEEE International Conference on e-Health and Bioengineering - EHB 2013, 21-23 November 2013, Iasi, Romania (Full paper – oral presentation). <http://www.ehbconference.ro/>.

5. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Pattern Recognition Techniques Applied for the Detection of Amphetamines Based on Infrared Laser Spectroscopy*, acceptat la IEEE International Conference on e-Health and Bioengineering - EHB 2013, 21-23 November 2013, Iasi, Romania (Full paper – oral presentation). <http://www.ehbconference.ro/>.

Articole publicate în reviste incluse în baze de date internaționale cotate CNSIS (B+)

1. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler – *Smoothing method applied for GC-FTIR spectra processing*, The Annals of “Dunarea de Jos” University of Galati, Fascicle IX Metallurgy and Materials Science, May 2011, p. 275 – 277, ISSN 1453-083X, <http://www.fmet.ugal.ro/>.
2. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler – *Comparative analysis of smoothing filters used for GC – FTIR spectra processing*, Annals of “Dunarea de Jos” University of Galati Fascicle II, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics, Year III , 2011, No. 2. p. 145 – 149, ISSN 2067 – 2071, http://www.phys.ugal.ro/Annals_Fascicle_2.
3. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler – *Benefits of the analysis of complex GC – FTIR spectra based on their first and second derivative*, Annals of “Dunarea de Jos” University of Galati Fascicle II, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics, Year III , 2011, No. 2. p. 150 – 153, ISSN 2067 – 2071, http://www.phys.ugal.ro/Annals_Fascicle_2.
4. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Cluster analysis applied for the discrimination of illicit amphetamines*, Annals of "Dunarea de Jos" University of Galati, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics, Fascicle II, Year V (XXXVI) 2013, Nos. 1-2, p. 60 – 67, ISSN 2067-2071, http://www.phys.ugal.ro/Annals_Fascicle_2.
5. Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, *Detection of illegal amphetamines based on principal component analysis and discriminant analysis*, Annals of "Dunarea de Jos" University of Galati, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics, Fascicle II, Year V (XXXVI) 2013, Nos. 1-2 , p. 69 – 76, ISSN 2067-2071, http://www.phys.ugal.ro/Annals_Fascicle_2.
6. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Optimized detection of amphetamines based on principal component analysis*, Annals of Constanta Maritime University, Year XIV, 19th issue, Ed. Nautica, Constanța, 2013, p. 223-230, ISSN 1582-3601, <http://www.cmu-edu.eu/anale/anale.html>.
7. Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, *Selective amplifier used for the efficient detection of amphetamines*, Annals of Constanta Maritime University, Year XIV, 19th issue, Ed. Nautica, Constanța, 2013, p. 231-236, ISSN 1582-3601, <http://www.cmu-edu.eu/anale/anale.html>.

Articole publicate în reviste cu ISSN

1. Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, *Evaluation of selectivity and sensitivity of GC-FTIR absorption for detection of amphetamines*, Proceedings of the International Scientific Workshop “European Union – Space of liberty, Security and Justice”, Police Academy, Bucharest, 23 May 2013, Ed. Universitara, p. 410 – 421, ISBN 978-606-591-723-1.
2. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Feasibility study regarding the detection and discrimination of amphetamines based on vibrational spectra*, Proceedings of the International Scientific Workshop “European Union – Space of liberty, Security and Justice”, Police Academy, Bucharest, 23 May 2013, Ed. Universitara, p. 480 – 490, ISBN 978-606-591-723-1.
3. Stefănuț Ciochină, Mirela Praisler, *Evaluation of amphetamines detection efficiency by cluster analysis*, Proceedings of the International Conference on INovation and Collaboration in Engineering Research, Second Edition, June 20 – 22, 2013, Bucharest, Romania. p. 85 – 88. ISSN 2344 – 1720 ISSN-L 2344 – 1720 http://www.incer.eu/docs/Proceedings_INCER_2013_WEB.pdf#zoom=100.
4. Mirela Praisler, Stefănuț Ciochină, *Indicators of analytical geometry applied for the evaluation of PCA classification of illegal amphetamines*, Proceedings of the International Conference on INovation and Collaboration in Engineering Research, Second Edition, June 20 – 22, 2013, Bucharest, Romania, p. 81 – 84. ISSN 2344 – 1720 ISSN-L 2344 – 1720, http://www.incer.eu/docs/Proceedings_INCER_2013_WEB.pdf#zoom=100.

Participari la conferințe internaționale

1. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, Antoaneta Ene – *Smoothing method applied for GC-FTIR spectra processing*, International Conference “New Trends in Environmental and Materials Engineering, Galati, 18-20 May 2011, <http://www.fmet.ugal.ro/>.
2. Gabriel Murariu, Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, Atanasia Stoica, *Mathematical models designed to assess the risk situations created by river flows*, First International Conference on Moldavian Risks - From Global To Local Scale, 16-19 May 2012, Bacău, Romania. <http://mrconference.ub.ro/>.
3. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler – *Comparative analysis of smoothing filters used for GC – FTIR spectra procesing*, First PhD Student Symposium, Galati, 7 – 8 December 2011, <http://www.posdru.ugal.ro/topacademic/simpozion2011.php>.
4. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler – *Sammon projection applied for the automated detection of amphetamines*, Second PhD Student Symposium, Galati, 13 – 14 December 2012, <http://posdru.ugal.ro/topacademic/simpozion2012.php>.
5. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Studiu de fezabilitate privind detecția și discriminarea amfetaminelor pe baza spectrelor vibraționale*, Sesiunea Științifică Internațională “Uniunea Europeană – Spațiu de libertate, Securitate si Justiție”, Bucuresti, 23 mai 2013, <http://www.academiadepolitie.ro/>.
6. Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, *Evaluarea selectivității și sensibilității absorbțiilor GC-FTIR pentru detecția amfetaminelor*, Sesiunea Științifică Internațională “Uniunea Europeană – Spațiu de libertate, Securitate si Justiție”, Bucuresti, 23 mai 2013, <http://www.academiadepolitie.ro/>.
7. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Evaluation of amphetamines detection efficiency by cluster analysis*, International Conference on Innovation and Collaboration in Engineering Research, Second Edition, 20 – 22 June 2013, Bucharest, Romania, <http://www.incer.eu/>.
8. Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, *Indicators of analytical geometry applied for the evaluation of PCA classification of illegal amphetamines*, International Conference on Innovation and Collaboration in Engineering Research, Second Edition, 20 – 22 June 2013, Bucharest, Romania, <http://www.incer.eu/>.

Participari la conferințe naționale

1. Stefanut Ciochina, Mirela Praisler, *Cluster analysis applied for the discrimination of illicit amphetamines*, Scientific Conference of Doctoral Schools from UDJ Galati CSSD-UDJG 2013, First Edition, Galati, 16-17th of May 2013 , <http://www.cssd-udjg.ugal.ro/>.
2. Mirela Praisler, Stefanut Ciochina, *Detection of illegal amphetamines based on Principal Component Analysis and Discriminant Analysis*, Scientific Conference of Doctoral Schools from UDJ Galati CSSD-UDJG 2013, First Edition, Galati, 16-17th of May 2013 , <http://www.cssd-udjg.ugal.ro/>.