UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

HELLEN INÁCIA DOS SANTOS

DETERMINAÇÃO DE ESCOPOLAMINA E BUTILESCOPOLAMINA EM AMOSTRAS DE BEBIDAS, URINA E COMPRIMIDOS DE BUSCOPAN® USANDO MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS

GOIÂNIA
2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

[x] Dissertação [ ] Tese [ ] Outro*:_____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Hellen Inácia dos Santos

3. Título do trabalho

DETERMINAÇÃO DE ESCOPOLAMINA E BUTILESCOPOLAMINA EM AMOSTRAS DE BEBIDAS, URINA E COMPRIMIDOS DE BUSCOPAN® USANDO MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento [X] SIM [ ] NÃO[1]

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:
a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.
Casos de embargo:
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.

Documento assinado eletronicamente por **Wendell Karlos Tomazelli Coltro**, **Professor do Magistério Superior**, em 16/10/2023, às 11:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Documento assinado eletronicamente por **Hellen Inacia Dos Santos**, **Discente**, em 17/10/2023, às 16:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4123278** e o código CRC **96737796**.

Referência: Processo nº 23070.039190/2023-21 SEI nº 4123278

HELLEN INÁCIA DOS SANTOS

DETERMINAÇÃO DE ESCOPOLAMINA E BUTILESCOPOLAMINA EM AMOSTRAS DE BEBIDAS, URINA E COMPRIMIDOS DE BUSCOPAN® USANDO MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (UFG), como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.
Área de concentração: Química

Orientador: Professor Doutor Wendell Karlos Tomazelli Coltro

GOIÂNIA
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Santos, Hellen Inácia dos
Determinação de escopolamina e butilescopolamina em amostras de bebidas, urina e comprimidos de Buscopan® usando microssistemas eletroforéticos [manuscrito] / Hellen Inácia dos Santos. - 2023.
88 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química (IQ), Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2023.
Bibliografia.
Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Alcaloides tropânicos. 2. Detecção eletroquímica. 3. Drogas de abuso. 4. Química forense. 5. Microfluídica. I. Coltro, Wendell Karlos Tomazelli, orient. II. Título.

CDU 54

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE QUÍMICA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº **369** da sessão da Defesa de Mestrado de **Hellen Inácia dos Santos**, que confere o título de **Mestra em Química**, na área de concentração em **Química**.

Aos **08 (oito) dias do mês de agosto de 2023 (dois mil e vinte e três)**, a partir das **09h00m**, **no Anfiteatro do IQ II / videoconferência**, realizou-se a sessão pública da Defesa de Mestrado intitulada **"DETERMINAÇÃO DE ESCOPOLAMINA E BUTILESCOPOLAMINA EM AMOSTRAS DE BEBIDAS, URINA E COMPRIMIDOS DE BUSCOPAN® USANDO MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS"**. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, **Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro (IQ/UFG)**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Prof. Dr. Dosil Pereira de Jesus (IQ/Unicamp) e Profª. Drª. Andréa Rodrigues Chaves (IQ/UFG)**. Durante a arguição os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Defesa de Mestrado, tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos 08 (oito) dias do mês de agosto de 2023 (dois mil e vinte e três).

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Documento assinado eletronicamente por **Wendell Karlos Tomazelli Coltro**, **Professor do Magistério Superior**, em 08/08/2023, às 11:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Documento assinado eletronicamente por **Andrea Rodrigues Chaves**, **Professor do Magistério Superior**, em 08/08/2023, às 11:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Documento assinado eletronicamente por **Dosil Pereira de Jesus**, **Usuário Externo**, em 08/08/2023, às 13:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3942152** e o código CRC **ECFEE99D**.

Referência: Processo nº 23070.039190/2023-21 SEI nº 3942152

“No momento em que você pensar em desistir, pense no motivo pelo qual você aguentou tanto.”

Natsu Dragneel (Fairy Tail)

Dedico este trabalho

À Deus, por me conceder a oportunidade de existir neste vasto mundo e aos meus amados pais, Vandélia e Glaydson, cujo amor incondicional e constante apoio foram essenciais em minha jornada. Palavras não são suficientes para expressar o quanto sou grata por tudo o que fizeram por mim. Esta conquista não é apenas minha, mas também deles.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento desta dissertação. Caso eu tenha esquecido de alguém, peço desculpas.

Primeiramente, agradeço a Deus por sempre estar comigo, guiar os meus passos e por colocar pessoas tão importantes no meu caminho. Nos momentos mais difíceis, Ele foi o meu melhor companheiro.

Aos meus pais, Vandélia e Glaydson, por todo amor, carinho e sacrifício feitos por mim, sei que se não fosse por vocês eu não teria chegado até aqui. Vocês abdicaram de tantas coisas para me proporcionar uma educação que não puderam ter e, serei eternamente grata por isso. Mãe, obrigada por ser minha melhor amiga, conselheira e por sempre me incentivar a correr atrás dos meus sonhos. Pai, agradeço a você por ser esse exemplo de pessoa honesta, humilde e batalhadora. Essa conquista não é apenas minha, é nossa. Amo muito vocês!

À minha família, especialmente, aos meus avós, Idelmana e Abadio, meu irmão, Johnny, que me ajudaram em várias etapas da minha vida e por todo incentivo.

Gostaria de agradecer também ao Nicolas, por todo o amor, pelo incentivo e por estar presente quando precisei. Agradeço de coração por me ouvir em meus momentos de desabafo, por oferecer seu apoio e carinho.

A todos os meus amigos “Da escola para vida”, especialmente a Cleid, Denner, Miih, Mari, Júlio, Valdemir, Miriã e Mazin por tornar meus dias mais leves e divertidos, repletos de risadas e momentos inesquecíveis. Agradeço por sempre me incentivarem e por toda amizade concedida. Vocês são um presente precioso em minha vida.

Aos meus amigos do grupinho "SOS" - Ismael, Ana Paula, Náthy, Larissa, Augusto e Anna Kelly -, que foram essenciais em minha jornada. Mesmo após a graduação, vocês mantiveram contato, proporcionaram momentos de descontração e diversão. Sou grata pela amizade, apoio e incentivo.

Ao meu orientador, prof. Dr. Wendell, por todas as oportunidades concedidas, pela paciência, pelos valiosos ensinamentos e orientação fornecidos ao longo desta jornada acadêmica. Agradeço imensamente por acreditar no meu potencial e por me incentivar constantemente a buscar o melhor em cada desafio. Sou profundamente grata ao senhor!

Agradeço ao Grupo de Microfluídica e Eletroforese (GME), em especial a Dani, Leyllanne, Habdias, Laísa, Rafael, Joyce e Maurício, por toda amizade, apoio e momentos de risos, vocês foram muito importantes durante esta jornada. Obrigada por tudo!

Também gostaria de expressar minha gratidão à Kemilly por sua paciência e ensinamentos sobre eletroforese, você foi de grande ajuda e sou grata por tudo que aprendi com você.

Agradeço ao prof. Dr. Eduardo pela colaboração neste trabalho e por ter disponibilizado as substâncias a serem analisadas.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Goiás, por me permitir participar do programa de pós-graduação em química, no nível de mestrado e à Capes pela bolsa concedida e apoio à pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS i
LISTA DE TABELAS iv
LISTA DE ABREVIATURAS v
LISTA DE SÍMBOLOS vi
RESUMO vii
ABSTRACT viii
1 INTRODUÇÃO 1
1.1 Boa noite, cinderela! 1
1.2 Escopolamina (SCO) 3
1.3 Butilescopolamina (BSCO) 6
1.4 Uso de técnicas analíticas na determinação da SCO e/ou BSCO 8
1.5 Eletroforese 9
1.5.1 Eletroforese em microssistemas 14
1.5.1.1 Modos de injeção 15
1.5.1.2 Detecção condutométrica sem contato (C^4D) 16
2 OBJETIVOS 19
2.1 Objetivo geral 19
2.2 Objetivos específicos 19
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL 21
3.1 Reagentes 21
3.2 Instrumentação 23
3.3 Otimização da frequência operacional e amplitude do C^4D 25
3.4 Procedimentos eletroforéticos 26
3.5 Bebidas, urina e amostras de comprimidos de Buscopan® 27
3.6 Eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas 28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 31
4.1 Otimização do tampão de análise 31
4.2 Otimização dos potenciais 32
4.3 Otimização do tempo de injeção 34
4.4 Otimização da frequência operacional e voltagem de excitação 35
4.5 Desempenho analítico 36
4.6 Análise de bebidas, urina e comprimidos de Buscopan® 42
5 CONCLUSÕES 50

6 PERSPECTIVAS 52
REFERÊNCIAS 54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química, fórmula molecular e pKa da escopolamina. 4

Figura 2 - Estrutura química e fórmula molecular da butilescopolamina. Compostos quartenários de amônio, como a butilescopolamina, são quase sempre protonadas (carregadas positivamente) em amplas faixas de pH. ... 7

Figura 3 - Instrumentação utilizada em eletroforese capilar..... 10

Figura 4 - Ilustração da geração do fluxo eletromóstico na parede interna do capilar. 12

Figura 5 - Esquema de uma cela de detecção C^4D, sendo, C_1 e C_2 as capacitâncias formadas na parede do microcanal, C_0 a capacitância direta entre os eletrodos e R_s a resistência da solução. 17

Figura 6 - (A) Instrumentação para MSE-C^4D, **(B)** fonte de alta tensão, **(C)** detector, **(D)** plataforma e **(E)** microchip comercial de vidro. 23

Figura 7 - Em **(A)** modelo do microchip eletroforético, com comprimento de 90 mm e largura de 15 mm. **(B)** comprimento total e efetivo do canal de separação, sendo de 85 mm e 77 mm, respectivamente e comprimento total do canal de injeção com 15 mm. Com A, DA, T e DT sendo a representação do reservatório da amostra, descarte da amostra, tampão e descarte do tampão, respectivamente..... 24

Figura 8 - Processo de introdução da amostra pelo modo *gated* e os respectivos potenciais empregados nas análises. Em **(A)**, observa-se a representação do microchip de eletroforese com configuração em duplo-T. **(B**) o preenchimento dos canais com tampão e amostra aplicando potenciais de 1,5 kV e 2,0 kV nos reservatórios A e T, respectivamente, mantendo os demais aterrados. **(C)** Introdução do plug de amostra ao desligar por 1s o potencial 2,0 kV, aplicado no reservatório T, mantendo os demais aterrados. Em **(D)**, quando o potencial 2,0 kV e reestabelecido, promovendo a introdução de uma zona de amostra no interior do canal de separação. 26

Figura 9 - Sistema composto por um equipamento de eletroforese capilar desenvolvido pela Agilent Technologies modelo 7100 acoplado a um detector de espectrometria de massas modelo 6545 com fonte de ionização por eletrospray (ESI). **(A)** CE; **(B)** MS; **(C)** computadores; **(D)** gerador de nitrogênio; **(E)** cilindro de nitrogênio 5.0 e **(F)** capilar de sílica. 28

Figura 10 - Eletroferogramas mostrando a otimização da composição do tampão **(A)** com a variação de pH de (a) 4,0; (b) 4,5; (c) 5,0; (d) 5,5 adicionando diferentes concentrações de NaOH, (a) 3, (b) 7, (c) 13 e (d) 17 mmol L^{-1} às soluções, mantendo a concentração de HBut constante em 20 mmol L^{-1}; **(B)** Avaliação da força iônica da solução tampão em pH 5,0: (a) 10 mmol L^{-1} HBut e 3 mmol L^{-1} NaOH; (b) 20 mmol L^{-1} HBut e 13 mmol L^{-1} NaOH; (c) HBut 30 mmol L^{-1} e NaOH 19 mmol L^{-1}; (d) HBut 40 mmol L^{-1} e NaOH 25 mmol L^{-1}. Concentrações: 100 µmol L^{-1} de **(1)** SCO e **(2)** BSCO. Controle eletrocinético: as tensões aplicadas aos reservatórios de amostra e tampão foram de 1,5 kV e 2,0 kV, respectivamente. Tempo de injeção: 1 s. Parâmetros de detecção: onda senoidal de 1200 kHz com amplitude de 20 V_{pp}. 32

Figura 11 - Eletroferogramas mostrando a otimização do potencial. **(A)** O potencial aplicado no reservatório do tampão foi mantido constante em 2,0 kV e o potencial aplicado no reservatório de amostra variou de 1,1 a 1,5 kV, com incrementos de 0,2 kV. **(B)** O potencial aplicado no reservatório da amostra foi mantido constante em 1,5 kV, enquanto o potencial aplicado no reservatório tampão em execução variou de 1,8 a 2,2 kV, com incrementos de 0,2 kV. Tampão: 40 mmol L^{-1} HBut e 25 mmol L^{-1} NaOH. Tempo de injeção: 1s. Parâmetros de detecção: frequência de 1200 kHz com amplitude de 20 V_{pp}. Os analitos foram testados a 100 µmol L^{-1} de SCO e BSCO, cada. 33

Figura 12 - Eletroferograma mostrando o efeito do tempo de injeção no desempenho de separação do SCO e BSCO. 35

Figura 13 - Otimização da frequência operacional e voltagem de excitação para o tampão HBut 40 mmol L-1 e NaOH 25 mmol L^{-1}, no modo *HG-OFF.* 36

Figura 14 - Eletroferogramas mostrando **(A)** os diferentes níveis de concentração e curva de calibração para **(B)** SCO e **(C)** BSCO..... 38

Figura 15 - Eletroferogramas mostrando a detecção das drogas **(1)** SCO e **(2)** BSCO em amostras de bebidas: (a) cachaça, (b) vodca, (c) uísque, (d) cerveja, (e) refrigerante de coca e (f) suco de uva. **(A)** sem dopagem e **(B)** dopagem a um nível de concentração de 50 µmol L^{-1} de SCO e BSCO, respectivamente..... 43

Figura 16 - Eletroferogramas mostrando a detecção de SCO **(1)** e BSCO **(2)** em uma amostra de urina artificial antes (a) e após a adição de 50 µmol L^{-1} (b) e 100 µmol L^{-1} (c) de ambos os compostos. 44

Figura 17 - Análise da interferência de Na^{+}, Ca^{2+} e Mg^{2+} em solução contendo padrões de SCO e BSCO. (a) apenas os padrões SCO e BSCO na concentração de 100 µmol L^{-1}, (b) após adição de concentração de 100 µmol L^{-1} e (c) 500 µmol L^{-1} de cada cátion. 45

Figura 18 - Resultados do estudo Buscopan® com eletroferogramas mostrando (a) uma concentração de 50 µmol L^{-1} sem degradar e (b) diluído 5 vezes e degradado. Foi utilizado tampão com 40 mmol L^{-1} HBut/But e 25 mmol L^{-1} NaOH (pH 5,0). Controle eletrocinético: as tensões aplicadas aos reservatórios de amostra e tampão foram de 1,5 kV e 2,0 kV, respectivamente. Tempo de injeção: 1 s. Parâmetros de detecção: onda senoidal de 1200 kHz com amplitude pico a pico de 20 V. 46

Figura 19 - (A) espectro de BSCO presente no Buscopan® sem degradação e **(B)** espectro de SCO e BSCO após o aquecimento do Buscopan®..... 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Reagentes usados e suas respectivas fórmulas moleculares, massas molares, fabricantes e purezas..... 21

Tabela 2 - Análise das áreas de pico para SCO e BSCO, juntamente com a resolução entre eles, considerando a influência da variação do potencial aplicado no RA (1,1 a 1,5 kV), mantendo o potencial aplicado no RT constante em 2,0 kV, e a influência da variação do potencial aplicado no RT (1,8 a 2,2 kV), mantendo o potencial aplicado no RA constante em 1,5 kV. 34

Tabela 3 - Coeficientes de correlação e equação da reta para SCO e BSCO. 38

Tabela 4 - Comparação do desempenho analítico do método proposto com outros estudos encontrados na literatura..... 40

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BIA	Injeção em batelada
BSCO	Butilescopolamina
C^4D	Detecção condutométrica sem contato
CE	Eletroforese capilar
CEC	Eletrocromatografia Capilar
CGE	Eletroforese Capilar em Gel
CIEF	Focalização Isoelétrica Capilar
cITP	Isotacoforese Capilar
CZE	Eletroforese Capilar em Zona Livre
DFSA	Drug-facilitated sexual assault
DPR	Desvio padrão relativo
ESI	Ionização por eletrospray
FEO	Fluxo eletrosmótico
GC	Cromatografia gasosa
GHB	Ácido γ-hidroxibutírico
HBut	Ácido butírico
HFor	Ácido fórmico
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MEKC	Cromatografia Eletrocinética Micelar
MSE	Microssistema eletroforético
PC	Policarbonato
PDMS	Poli(dimetil siloxano)
pH	Potencial hidrogeniônico
PMMA	Poli(metilmetacrilato)
SCO	Escopolamina
SWV	Detecção voltamétrica de onda quadrada

LISTA DE SÍMBOLOS

A_r	Área do ruído
A	Área do pico
C	Concentração
C_0	Capacitância direta entres os eletrodos
C_1 e C_2	Resistências por parte da parede do microcanal
E	Campo elétrico
Hz	Hertz
m/z	Razão massa-carga
N	Eficiência de separação
q	Carga do íon
R	Resolução
R_s	Resistência imposta pela solução
t_m	Tempo de migração
V	Volts
V_{pp}	$V_{pico\ a\ pico}$
W_b	Largura da base do pico
ºC	Escala Celsius
ε	Constante dielétrica
v_{ap}	Velocidade aparente
v_{ef}	Velocidade eletroforética
v_{FEO}	Velocidade eletrosmótica
μ_{ap}	Mobilidade aparente
μ_{ef}	Mobilidade eletroforética
ζ	Potencial zeta
η	Viscosidade

RESUMO

O número de casos em que a escopolamina (SCO) foi usada para fins recreativos e predatórios aumentou dramaticamente nas últimas décadas. Atrelado a isso, existe a preocupação em obter a SCO por meio da degradação térmica da butilescopolamina (BSCO) – princípio ativo do Buscopan® – medicamento comercializado sem prescrição médica. Neste estudo, misturas contendo SCO e BSCO foram separadas e detectadas em microssistema eletroforético (MSE) acoplado à detecção condutométrica sem contato (C^4D) usando um tampão de corrida composto de 40 mmol L^{-1} de ácido butírico e 25 mmol L^{-1} de hidróxido de sódio (pH 5,0). A separação foi realizada em aproximadamente 115 s com resolução de 1,3 e eficiência de separação de $1,4x10^5$ e $1,5x10^5$ pratos teóricos m^{-1} para SCO e BSCO, respectivamente. O limite de detecção de 1,1 µmol L^{-1} foi alcançado para ambas as espécies e o método desenvolvido revelou repetibilidade satisfatória com valores de desvio padrão relativo (DPR) para quarenta e oito injeções entre 4,8 e 9,4% para áreas de pico e menores que 3,3% para tempos de migração. Além disso, a precisão inter-dias foi avaliada para dezesseis injeções (uma sequência de quatro injeções realizadas em quatro dias) e os valores de DPR foram inferiores a 6,6% para áreas de pico e 2,2% para tempos de migração. Valores de recuperação satisfatórios (95 – 114%) foram obtidos para todas as amostras de bebidas avaliadas (cachaça, vodca, uísque, cerveja, refrigerante base de coca e suco de uva), bem como para amostras de urina artificial (95 – 107%). Por fim, foi observada a conversão de BSCO em SCO após simples aquecimento da amostra de Buscopan® (não sujeito a prescrição médica), o que foi confirmado com sucesso por meio de análise por eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas (CE-MS). Com base nos resultados relatados, o uso de dispositivos MSE-C^4D demonstrou um enorme potencial para aplicações no campo da química forense.

Palavras-Chave: alcaloides tropânicos, detecção eletroquímica, drogas de abuso, química forense, microfluídica.

ABSTRACT

The number of cases in which scopolamine (SCO) was used for both recreational and predatory purposes has increased dramatically in recent decades. Linked to this, there is a concern about obtaining SCO through thermal degradation of butylscopolamine (BSCO) – an active ingredient of Buscopan® – a drug sold without a medical prescription. In this study, mixtures containing SCO and BSCO were separated and detected on a microchip electrophoresis (ME) device with integrated capacitively coupled contactless conductivity detection (C^4D) using a running buffer composed of 40 mmol L^{-1} of butyric acid and 25 mmol L^{-1} of sodium hydroxide (pH 5.0). The separation was performed within ca. 115 s with a resolution of 1.3 and separation efficiency of $1.4x10^5$ and $1.5x10^5$ theoretical plates m^{-1} for SCO and BSCO, respectively. The limit of detection was 1.1 µmol L^{-1} for both species and the developed method revealed satisfactory repeatability with relative standard deviation (RSD) values for forty-eight injections between 4.8 and 9.4% for peak areas and lower than 3.3% for migration times. Furthermore, inter-day precision was evaluated for sixteen injections (a sequence of four injections performed over four days), and RSD values were less than 6.6% for peak areas and 2.2% for migration times. Satisfactory recovery values (95 – 114 %) were obtained for all evaluated beverage samples (cachaça, vodka, whiskey, beer, coke soft drink, and grape juice) as well as for artificial urine samples (95 – 107 %). Finally, the conversion of BSCO into SCO was observed after simple heating procedure of Buscopan® sample (not subject to medical prescription), which was successfully confirmed through analysis by capillary electrophoresis coupled to the mass spectrometry (CE-MS). Based on the reported results, the use of ME-C^4D devices has demonstrated a huge potential for applications in the forensic chemistry field.

Keywords: tropane alkaloids, electrochemical detection, drugs of abuse, forensic chemistry, microfluidics.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 BOA NOITE, CINDERELA!

As drogas facilitadoras de agressões sexuais e/ou roubos têm se tornado um assunto de preocupação crescente na sociedade, havendo um aumento alarmante nos relatos desses crimes. Elas são popularmente conhecidas pelos termos em inglês "*drug-facilitated sexual assault*" (DFSA), "*drink spiking*" e "*date rape*". No Brasil, são conhecidas como "boa noite, cinderela". Essas drogas facilitadoras são utilizadas com o intuito de incapacitar as vítimas, tornando-as vulneráveis a abusos sexuais e roubos (COSTA; LAVORATO; BALDIN, 2020; RIBEIRO, 2022). Embora o uso dessas substâncias não seja algo novo, sua presença e os riscos associados a elas têm despertado a atenção de autoridades, profissionais de saúde e da comunidade científica (HALL; MOORE, 2008).

Uma variedade considerável de DFSA é comumente utilizada, englobando substâncias como o álcool, benzodiazepínicos (como lunitrazepam, diazepam, temazepam, clonazepam, oxazepam), GHB (ácido γ-hidroxibutírico), ketamina, escopolamina, anfetaminas (incluindo metanfetamina e metilenodioximetanfetamina), barbitúricos, cocaína, maconha, opiáceos, relaxantes musculares (como carisoprodol, ciclobenzaprina, meprobamato), anti-histamínicos (como difenidramina) e hidrato de cloral (LEBEAU *et al*., 1999; SOCIETY OF FORENSIC TOXICOLOGISTS, 2021). Essa diversidade de substâncias, com suas notáveis diferenças químicas, acarreta desafios adicionais às investigações forenses, dificultando sua análise e identificação (LEBEAU *et al*., 1999; NEGRUSZ; GAENSSLEN, 2003).

Além disso, muitas das DFSA são frequentemente inodoras, insípidas e incolores. Como resultado, são administradas furtivamente em alimentos ou bebidas e também podem ser oferecidas a pessoas desavisadas, com o objetivo de diminuir sua consciência e resistência, facilitando assim a ocorrência de crimes sexuais e roubos. Um fator agravante é que, quando essas substâncias são misturadas com álcool, os seus efeitos podem ser

potencializados (DINIS-OLIVEIRA; MAGALHÃES, 2013; HURLEY; PARKER; WELLS, 2006; LEBEAU *et al*., 1999).

Essas drogas, usadas como "boa noite, cinderela", podem ocasionar diversos efeitos colaterais. Os mais comumente relatados pelas vítimas incluem confusão, batimento cardíaco diminuído, tontura, sonolência, julgamento prejudicado, falta de controle muscular, perda de consciência, náusea e redução da pressão sanguínea (LEBEAU *et al*., 1999). Entretanto, os principais sintomas são a perda de memória e a diminuição da inibição das vítimas. É por esse motivo principal que essas DFSA são escolhidas opcionalmente por criminosos. Dessa forma, as vítimas ficam incapacitadas de resistir aos avanços sexuais e têm dificuldade em lembrar claramente dos acontecimentos durante ou após o crime (DINIS-OLIVEIRA; MAGALHÃES, 2013).

Devido à natureza do crime sexual ou a amnésia retrógrada e anterógrada, é comum a vítima demorar a denunciar. Como resultado, as análises toxicológicas podem ser realizadas tardiamente, o que dificulta a detecção dessas drogas nas amostras biológicas. Isso ocorre porque a maioria dessas substâncias possui uma meia-vida curta, são rapidamente metabolizadas e geralmente são eliminadas pelo corpo dentro de 72 horas após a ingestão (COSTA; LAVORATO; BALDIN, 2020; DINIS-OLIVEIRA; MAGALHÃES, 2013). Portanto, é de extrema importância que a análise toxicológica seja realizada o mais rápido possível, a fim de detectar a presença da substância envolvida, de modo a aumentar as chances de encontrar evidências substanciais que possam corroborar as alegações da vítima (MOFFAT *et al*., 2011).

A análise toxicológica para determinação dessas drogas pode ser feita em diversas matrizes biológicas, como urina, sangue, saliva e cabelo, contudo, em muitas investigações a urina e o sangue são amostras preferidas devido à maior concentração das drogas, janela de detecção mais longa e correlação com os efeitos farmacológicos. No entanto, a escolha da matriz adequada depende das características da substância e dos objetivos da investigação (COSTA; LAVORATO; BALDIN, 2020; DINIS-OLIVEIRA; MAGALHÃES, 2013). Logo, LeBeau e colaboradores (1999) destacam que

amostras de sangue são especialmente importantes quando o crime ocorreu em até 24 horas após a coleta. No entanto, em comparação com o sangue, a urina é considerada menos invasiva e apresenta a possibilidade de vestígios de drogas e metabólitos permanecerem por um período mais prolongado (96 horas) (BROWN; MELTON, 2011; BROWN; RHODES; PRITCHARD, 2007; DINIS-OLIVEIRA; MAGALHÃES, 2013; NEGRUSZ; GAENSSLEN, 2003).

Os métodos mais comumente empregados para analisar DFSA são a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC/MS), sendo relatados limites de detecção de 1 ng mL^{-1} para a maioria das drogas usadas nesses tipos de casos (COSTA; LAVORATO; BALDIN, 2020; NEGRUSZ; GAENSSLEN, 2003; SOCIETY OF FORENSIC TOXICOLOGISTS, 2021).

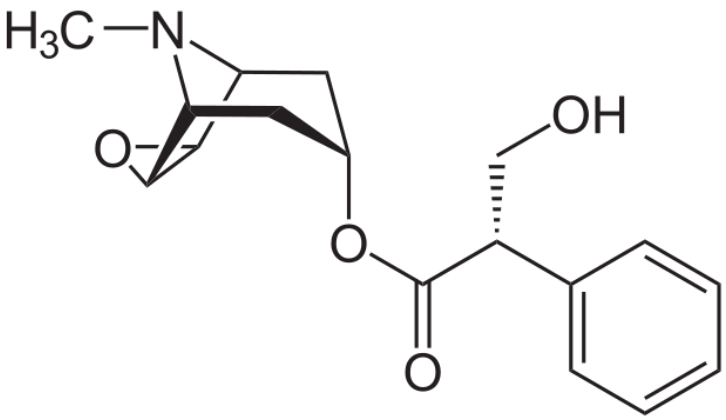
Diante do que foi apresentado, é essencial que haja o estudo dessas substâncias utilizadas como “boa noite, cinderela”, para auxiliar em investigações forenses e clínicas. Para tanto, é necessário métodos sensíveis para detectar vestígios dessas DFSA no sangue, urina ou cabelo. Além disso, é crucial fortalecer a prevenção, detecção e atendimento às vítimas por meio de políticas públicas e campanhas de conscientização, bem como, acompanhamento profissional.

1.2 ESCOPOLAMINA (SCO)

A escopolamina (SCO), apresentada na Figura 1, é conhecida também como hioscina, burundanga na América do Sul e bafo do diabo (*devil's breath*) na Ásia. Trata-se de um alcaloide tropânico encontrado em algumas plantas da família *Solanaceae*, tais como *Hyoscyamus albus L*., *Datura stramonium L.*, *Atropa belladonna L.*, *Mandragora autumnalis Bertol.*, *Scopolia carniolica Jacq.* e *Brugmansia candida Pers.* (DUFAYET *et al*., 2020; SÁIZ *et al*., 2013).

.

Escopolamina



Fórmula molecular = $C_{17}H_{21}NO_4$
pKa = 7,75

Figura 1 - Estrutura química, fórmula molecular e pKa da escopolamina.

Essa substância é uma amina terciária e na forma de medicamento é adquirida apenas com receita médica (CHEN *et al*., 2017; CHERKAOUI *et al*., 1998; DUFAYET *et al*., 2020; GRYNKIEWICZ; GADZIKOWSKA, 2008; KOHNEN-JOHANNSEN; KAYSER, 2019; SÁIZ *et al*., 2013; YUAN *et al*., 2010). No que se refere ao seu uso clínico, é comumente utilizada devido aos seus efeitos anticolinérgicos (antimuscarínicos), parassimpaticolíticos e antieméticos, promovendo alívio dos sintomas de cólicas abdominais, espasmos musculares, náuseas, pré-medicação anestésica e analgesia obstétrica. No entanto, também tem sido usada para fins predatórios e recreativos (CHEN *et al*., 2017; CHERKAOUI *et al*., 1998; DUFAYET *et al*., 2020; GRYNKIEWICZ; GADZIKOWSKA, 2008; KOHNEN-JOHANNSEN; KAYSER, 2019; SÁIZ *et al*., 2013; YUAN *et al*., 2010).

O principal motivo do uso da SCO por criminosos, para cometer agressões sexuais e roubos, é porque ela afeta a memória de curto prazo e o livre arbítrio da vítima, tendendo a um comportamento submisso e obediente. Essa reação é causada pela ação da SCO no sistema nervoso central, afetando a inibição dos receptores muscarínicos de acetilcolina, que influenciam as vias de neurotransmissão relacionadas à memória, causando

um quadro de amnésia devido ao bloqueio do núcleo basal de Meynert (CHRISTEN, 2000; KOHNEN-JOHANNSEN; KAYSER, 2019; LASZLO GYERMEK, 1997; SÁIZ et al., 2013; URIBE et al., 2005).

Além disso, esse alcaloide é insípido, inodoro e possui diversas formas de administração (oral, dérmica, intravenosa ou inalatória), por isso é facilmente absorvido pelo trato gastrointestinal, podendo também ser absorvido por via oral e dérmica (REICHERT *et al*., 2017; SÁIZ *et al*., 2013; URIBE *et al*., 2005).

A SCO é metabolizada principalmente no fígado, e os metabólitos primários são vários conjugados de glicuronídeos e sulfatos, além disso, se administrada de forma oral, após a ingestão aproximadamente 2,6% da SCO inalterada é recuperada na urina (LAKSTYGAL *et al*., 2019; PUTCHA *et al*., 1989; RENNER; OERTEL; KIRCH, 2005). Outro estudo indica que, uma porção da SCO é metabolizada no fígado, passando por um processo de hidrólise que resulta na formação de ácido trópico e escopina. Com cerca de 40% do composto eliminado pelos rins sem sofrer metabolização, permanecendo como atropina, enquanto 10% é excretado sem metabolização, mantendo-se como SCO (URIBE *et al*., 2005).

A meia-vida dessa substância depende da via de administração, sendo intravenosa (68,7 ± 1,0 min), oral (63,7 ± 1,3 min) e intramuscular (69,1 ± 8,0 min). Tendo como maior tempo de meia-vida a administração subcutânea com 213 min (RENNER; OERTEL; KIRCH, 2005).

Doses tóxicas de SCO variam significativamente entre adultos, com relatos de sobrevivência com ingestões acima de 100 mg, enquanto 10 mg foi letal para crianças (BALÍKOVÁ, 2002; BEVAN, 1976; LAUWERS *et al*., 1983; REICHERT *et al*., 2017; THAKKAR; LASSER, 1972). Sua intoxicação manifesta-se por taquicardia, palpitações, ressecamento da mucosa, efeitos oculares, retenção urinária, desorientação, alucinações, insônia e amnésia (LE GARFF *et al*., 2016; REICHERT *et al*., 2017). O antídoto mais comumente usado contra as intoxicações por SCO é a fisostigmina, um alcalóide pirolo-indol, que atua como um inibidor da colinesterase (KOHNEN-JOHANNSEN; KAYSER, 2019; LAUWERS *et al*., 1983).

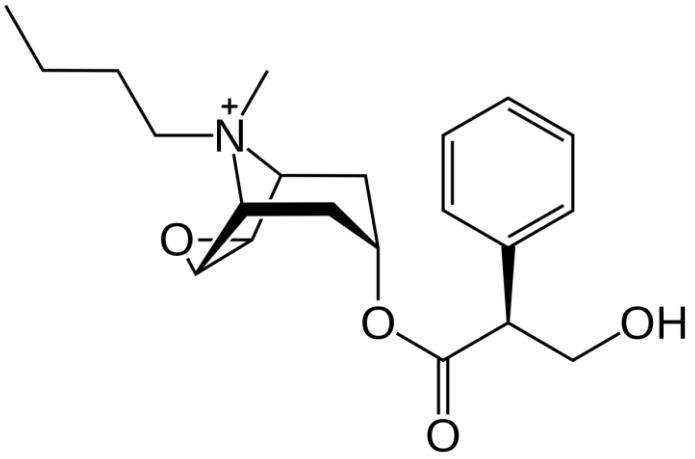
Por ser um potente sedativo, a SCO está associada a muitos casos de intoxicações pela ingestão de bebidas ou comidas. Sendo utilizada por criminosos como “boa noite cinderela”, para cometer crimes sexuais e roubos (LAUWERS *et al*., 1983; LUSTHOF *et al*., 2017; RIBEIRO *et al*., 2022 SÁIZ *et al*., 2013). Como ela pode atravessar a barreira hematoencefálica, causando alucinações, agitação e efeitos psicoativos, também é usada como droga recreativa, principalmente por usuários de drogas ilícitas (LUSTHOF *et al*., 2017; SÁIZ *et al*., 2013).

1.3 BUTILESCOPOLAMINA (BSCO)

A butilescopolamina (BSCO), também chamada de N-butilescopolamina, brometo de butilescopolamina ou butilbrometo de hioscina, é o princípio ativo do Buscopan®, um medicamento vendido sem receita médica em mais de 100 países (KUMMER *et al*., 2016; RIBEIRO *et al*., 2022).

Conforme demonstrado na Figura 2 abaixo, a BSCO é um composto quaternário de amônio sintetizado a partir da SCO, com baixa lipossolubilidade e pouca absorção no intestino, sendo difícil de penetrar a barreira hematoencefálica, portanto seus efeitos no sistema nervoso central são raros (FRASCHT *et al*., 2007; KOHNEN-JOHANNSEN; KAYSER, 2019; POMEROY; RAND, 2011; RUPREHT, 1991; VAN SASSENBROECK *et al*., 2005; VAPAATALO; PENTTILÄ; KALTIALA, 2011; WICK, 2011).

Butilescopolamina



Fórmula molecular = $C_{21}H_{30}BrNO_4$

Figura 2 - Estrutura química e fórmula molecular da butilescopolamina. Compostos quartenários de amônio, como a butilescopolamina, são quase sempre protonadas (carregadas positivamente) em amplas faixas de pH.

É utilizado como antiespasmódico e anticolinérgico para tratar dores abdominais, cólicas e espasmos intestinais, sem o risco de efeitos no sistema nervoso central, como desorientação, alucinações e perda de memória (KOHNEN-JOHANNSEN; KAYSER, 2019; MUTSCHLER *et al*., 2008).

O metabolismo da BSCO ocorre principalmente por hidrólise da ligação éster e os metabólitos não são considerados significativamente ativos. Além disso, é eliminado principalmente nas fezes (69,7%), pouco na urina (4,4%) e bile (2,8%). Se administrado 100 mg por infusão via intravenosa, observa-se uma redução rápida na concentração plasmática de BSCO, e a meia-vida de eliminação varia entre 1 e 5 horas. A depuração total é de 1,2 L min^{-1}, com metade do medicamento sendo excretado inalterado pelos rins (TYTGAT, 2007).

Na literatura, foram encontrados casos sobre a degradação térmica da BSCO para obtenção de SCO. Um estudo conduzido por Frascht *et al.* (2007), investigou a conversão de BSCO em SCO depois que um presidiário relatou ter alucinações após fumar comprimidos de Buscopan®. De maneira similar, Strano-Rossi *et al*. (2021) também investigaram um caso envolvendo um

homem de 41 anos com histórico de uso de maconha, que morreu repentinamente em sua cela após fumar comprimidos de Buscopan®. Relatos de consumo de SCO sintetizada a partir de Buscopan® em microondas também foram registrados (KUMMER *et al*., 2016). Além disso, um estudo recente conduzido por Ribeiro *et al*. (2022) utilizou eletroforese capilar acoplada à detecção condutométrica sem contato (CE-C^4D) para avaliar a conversão de BSCO em SCO sob diferentes condições de temperatura.

1.4 USO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS NA DETERMINAÇÃO DA SCO E/OU BSCO

Várias técnicas analíticas são utilizadas na determinação simultânea e/ou individual de SCO e BSCO em diferentes matrizes tais como cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (HPLC MS/MS) (GONZÁLEZ-GÓMEZ *et al*., 2022), potenciometria (MOSTAFA, 2002), injeção em batelada com detecção voltamétrica de onda quadrada (BIA-SWV) (DA COSTA OLIVEIRA *et al*., 2019) e eletroforese capilar (CE) (CHERKAOUI *et al*., 1998, 1999b; GOŁĄB *et al*., 2021; MARRA *et al*., 2014; MATEUS *et al*., 1998; RIBEIRO *et al*., 2022; SÁIZ *et al*., 2013).

Embora essas técnicas analíticas tenham mostrado potencial para a determinação de ambas as drogas, elas geralmente são caras e usam instrumentação volumosa. Com isso, o uso de microssistemas eletroforéticos (MSE) para a análise de SCO e BSCO apresenta-se como vantajoso devido à sua miniaturização, que permite portabilidade, análise rápida, baixo custo e consumo reduzido de reagentes e amostras (CASTRO; MANZ, 2015; WUETHRICH; QUIRINO, 2019). Vários métodos de detecção podem ser acoplados aos MSE, incluindo sistemas ópticos, espectrometria de massa e abordagens eletroquímicas (COLTRO *et al*., 2012; DE ARAUJO *et al*., 2018; KUBÁŇ; HAUSER, 2019; PINHEIRO *et al*., 2020).

A detecção condutométrica sem contato (C^4D) tornou-se um dos detectores eletroquímicos mais populares para monitorar separações baseadas em microchip e tem sido amplamente utilizada para uma variedade

de aplicações (COLTRO *et al*., 2012; ELBASHIR *et al*., 2022; HAUSER; KUBÁŇ, 2020; SÁIZ *et al*., 2013).

Mesmo não sendo encontrado nenhum estudo envolvendo análise de SCO e BSCO utilizando MSE-C^4D, essa técnica apresenta-se como vantajosa, por permitir análises forenses e clínicas rápidas que podem ser realizadas em campo, além do baixo custo e consumo reduzido de soluções.

Portanto, o desenvolvimento de um método empregando MSE-C^4D para análise simultânea e/ou individual da SCO e BSCO em bebidas e urina, bem como, no estudo da degradação térmica da BSCO; associada a simplicidade, rapidez, menor geração de resíduos e portabilidade, é considerada como uma importante ferramenta nas investigações forenses e clínicas.

1.5 ELETROFORESE

Eletroforese capilar (CE) é uma técnica de separação, na qual ocorre a migração diferenciada de espécies iônicas, ionizáveis ou neutras quando estas são submetidas a um campo elétrico gerado após a aplicação de uma diferença de potencial (BAKER, 1995; TAVARES, 1996). A instrumentação utilizada, conforme ilustrado na Figura 3, é composta por um capilar onde ocorre a separação, uma fonte de alta tensão, recipientes para armazenamento do eletrólito e da amostra, um detector e um sistema de aquisição de dados (FRAZIER; JAMES; NURSTEN, 2000; FREITAS, 2014; TAVARES, 1996).

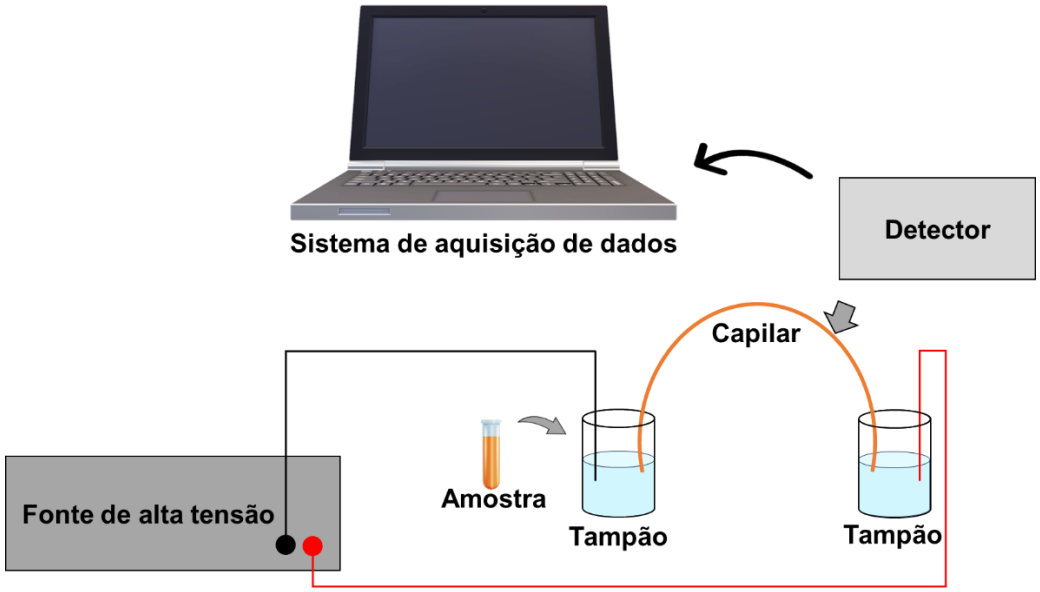


Figura 3 - Instrumentação utilizada em eletroforese capilar.

A separação das espécies por eletroforese ocorre devido às diferenças de velocidade eletroforética (v_{ef}) dos íons na presença de um campo elétrico. A velocidade eletroforética de um determinado íon pode ser definida pela seguinte equação:

$$v_{ef} = \mu_{ef} E \qquad \textbf{(1)}$$

Onde,

μ_{ep} = mobilidade eletroforética

E = campo elétrico aplicado

Além disso, todo íon em solução possui uma mobilidade eletroforética (μ_{ef}) característica, que é definida pela força elétrica que as espécies ionizadas sofrem, balanceada com as forças de fricção geradas pela passagem das espécies pelo meio (SPUDEIT; DOLZAN; MICKE, 2012). Para um determinado íon, sua mobilidade eletroforética pode ser determinada por:

$$\mu_{ef} = \frac{q}{6\pi\eta \mathrm{r}} \qquad \textbf{(2)}$$

Sendo,

q = carga do íon

η = viscosidade do tampão

r = raio iônico

De acordo com a Equação 2, é perceptível que a mobilidade eletroforética é diretamente proporcional à relação carga/raio da espécie. Logo, espécies com menor tamanho e maior carga apresentam uma mobilidade mais elevada em comparação a espécies com maiores raios iônicos e menor carga. Já espécies neutras terão uma mobilidade eletroforética igual a zero, já que q é zero (BAKER, 1995).

Um outro fenômeno importante para a separação eletroforética é a formação do fluxo eletrosmótico (FEO), que geralmente possui direção catódica. A parede interna do capilar possui grupos silanóis (SiOH), que em pH acima de 3 promove a desprotonação dos mesmos e formam-se grupos silanoatos (SiO^-) carregados negativamente, além disso, essa ionização pode ser aumentada passando uma solução básica pelo capilar como NaOH. Essas cargas negativas dos grupos silanoatos interagem com as cargas positivas da solução eletrolítica formando assim uma camada elétrica fixa na parede do capilar. A camada fixa não consegue promover a neutralização de toda a carga negativa na superfície interna da parede. Isso resulta na aglomeração de íons fracamente ligados à superfície interna do capilar. Essa segunda camada de íons é conhecida como camada móvel. Essas duas camadas formam a dupla camada elétrica e entre elas, existe um plano de cisalhamento. Com a aplicação de um campo elétrico, a camada móvel de cátions é atraída para o cátodo (polo negativo) e durante a migração, os cátions que estão solvatados acabam arrastando a solução tampão, gerando o FEO (Figura 4) (BAKER, 1995; JORGENSON, 1992; TAVARES, 1996).

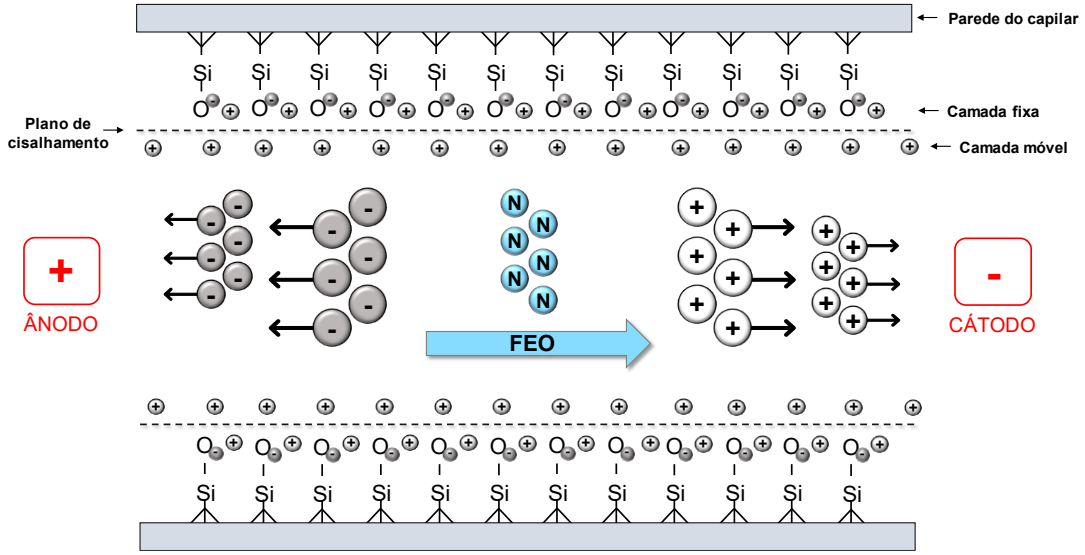


Figura 4 - Ilustração da geração do fluxo eletromóstico na parede interna do capilar.

A mobilidade do FEO é dependente das características do eletrólito de análise, sendo influenciada por variações na viscosidade, pH, força iônica e temperatura, porém independente do campo elétrico aplicado (TAVARES, 1996). A equação da velocidade do FEO, v_{FEO} , e a mobilidade eletrosmótica, μ_{FEO}, é dada por:

$$v_{FEO} = \frac{\varepsilon \zeta E}{4\pi\eta} \qquad \mu_{FEO} = \frac{\varepsilon\zeta}{\eta} \qquad \textbf{(3)}$$

Sendo,

ε = constante dielétrica do eletrólito

ζ = potencial zeta, estabelecido no plano de cisalhamento da camada difusa

Devido à dependência do pH na ionização dos grupos silanóis, a magnitude do FEO varia conforme o pH. Em pH mais elevados, em que os grupos silanóis estão mais desprotonados, a magnitude do FEO é maior em comparação a pH mais baixos, nos quais os grupos silanóis estão menos ionizados (SPUDEIT; DOLZAN; MICKE, 2012).

Em condições em que o FEO ocorre do ânodo para o cátodo, os ânions serão direcionados ao cátodo quando a magnitude do FEO for maior do que a magnitude das suas mobilidades efetivas. Dessa forma, as espécies

carregadas positivamente serão atraídas para o cátodo, as espécies carregadas negativamente serão atraídas para o ânodo, e as espécies neutras moverão de acordo com a velocidade eletrosmótica (BAKER, 1995). A velocidade aparente (v_{ap}) das espécies é o resultado da soma da velocidade eletroforética (v_{ef}) e da velocidade do fluxo eletrósmotico (v_{FEO}). Como demonstrado na Equação 4:

$$v_{ap} = v_{ef} + v_{FEO} \quad \textbf{(4)}$$

No contexto de separação de espécies catiônicas, usando potenciais positivos provenientes de uma fonte de alta tensão, as espécies serão observadas no eletroferograma na seguinte ordem de migração: cátions, neutras e ânions. Logo, as espécies carregadas positivamente serão atraídas para o cátodo, as espécies carregadas negativamente para o ânodo e as neutras migrarão de acordo com o FEO (BAKER, 1995; SPUDEIT; DOLZAN; MICKE, 2012; TAVARES, 1996).

Na separação de espécies aniônicas que possuem mobilidade maior que o FEO, a polaridade da fonte de alta tensão pode ser invertida, de modo que elas migrarão preferencialmente para o ânodo. Contudo, em análises de ânions que possuem mobilidade menor que o FEO, tem-se como alternativa manter os potenciais de polaridade negativa e adicionar surfactante catiônico ao eletrólito de corrida, como por exemplo sal de alquil-amônio, para que assim haja a inversão do FEO, fazendo com que esse fluxo tenha o mesmo sentido que os ânions (BAKER, 1995; FREITAS, 2014; HEIGER, 2000; PINHEIRO, 2018). A relação entre a mobilidade eletroforética (μ_{ef}) e eletrosmótica (μ_{FEO}) que gera a mobilidade aparente (μ_{ap}) é dada pela soma vetorial das duas mobilidades:

$$\mu_{ap} = \mu_{ef} + \mu_{FEO} \quad \textbf{(5)}$$

A CE possui um conjunto de métodos de eletromigração, também conhecidos como modos da eletroforese. Entre os modos mais comuns estão

a Eletroforese Capilar em Zona Livre (CZE), Isotacoforese Capilar (cITP), Cromatografia Eletrocinética Micelar (MEKC), Eletrocromatografia Capilar (CEC), Focalização Isoelétrica Capilar (CIEF) e Eletroforese Capilar em Gel (CGE) (DE QUEIROZ; JARDIM, 2018; TAVARES, 1997).

1.5.1 ELETROFORESE EM MICROSSISTEMAS

O conceito de tecnologias microfluídicas, também conhecido como "*lab-on-a-chip*", introduzido por Manz e colaboradores na década de 90, tem sido amplamente reconhecido ao longo dos anos como uma abordagem significativa para a química analítica (COLTRO *et al*., 2007; MANZ; GRABER; WIDMER, 1990; OU *et al*., 2020). Grande parte dos trabalhos nesse campo se concentrou no desenvolvimento de microchips de eletroforese também conhecido como microssistemas eletroforéticos (MSE), que demonstrou diversas aplicações na química, biologia, medicina e meio ambiente (CASTRO; MANZ, 2015; CHEN *et al*., 2019; HARRISON *et al*., 1993; MATHIES; HUANG, 1992; OU *et al*., 2020; ROCKLIN; RAMSEY; RAMSEY, 2000; SHULTZ-LOCKYEAR *et al*., 1999; WUETHRICH; QUIRINO, 2019).

Diversas vantagens foram adquiridas com o uso dos MSE, como portabilidade para análises em campo, redução do consumo de amostras e reagentes (da ordem de pL-nL), análises rápidas, baixo custo de fabricação e possibilidade de integração de etapas analíticas (COLTRO *et al*., 2007; HASSAN, 2020; OU *et al*., 2020; WOOLLEY *et al*., 1998).

Ao longo dos anos, vários substratos são relatados na literatura para a fabricação dos MSE, como poli(dimetil siloxano) (PDMS) (BRESSAN *et al*., 2019; CHOUBEY; DUBEY; BAHGA, 2023; LOBO-JÚNIOR *et al*., 2017), poli(metilmetacrilato) (PMMA) (LOBO-JÚNIOR *et al*., 2020; YANG *et al*., 2018), papel (LEE *et al*., 2017), policarbonato (PC) (SHADPOUR *et al*., 2007; WANG *et al*., 2008), poliéster-toner (PT) (COLTRO; DA SILVA; CARRILHO, 2008) e também dispositivos híbridos (ERRO; ORTIZ, 2014; GONZÁLEZ-LÓPEZ; CASTAÑO-ÁLVAREZ; FERNÁNDEZ ABEDUL, 2020)

Entretanto, microdispositivos de vidro são amplamente utilizados, mesmo que seja necessário na sua fabricação a utilização de instrumentações

sofisticadas que ocasionam em altos custos. Isso se deve ao fato das vantagens obtidas, como transparência óptica, estabilidade química, isolamento elétrico e similaridade com a sílica fundida, o que contribui para a dissipação do calor gerado pelo efeito Joule (COLTRO *et al*., 2007; EFFENHAUSER; MANZ; WIDMER, 1993; SEILER; HARRISON; MANZ, 1993).

Além disso, os MSE tem sido usado em uma variedade de aplicações, como por exemplo, na área forense e clínica, em que são realizadas análises de substâncias biologicamente ativas (TŮMA, 2022), drogas ilícitas (BARRETO *et al*., 2020; MOREIRA *et al*., 2018), de bebidas adulteradas (REZENDE *et al*., 2016) e de resíduos de explosivos (PINHEIRO *et al*., 2019).

1.5.1.1 MODOS DE INJEÇÃO

Os avanços na miniaturização de sistemas eletroforéticos trouxeram melhorias instrumentais significativas. No entanto, de acordo com Pinheiro *et al*. (2021), um dos principais desafios enfrentados em MSE é a introdução da amostra, pois é necessário haver controle da quantidade injetada para que haja maior confiabilidade e reprodutibilidade nas análises (PINHEIRO; REZENDE; COLTRO, 2021; SAITO; COLTRO; DE JESUS, 2012).

Dessa forma, à introdução da amostra nos microcanais pode ocorrer devido à diferença de pressão ou gravidade, conhecido como injeção hidrodinâmica, ou através da aplicação de potencial elétrico, conhecida como injeção eletrocinética, sendo que este tipo de injeção oferece maior simplicidade instrumental e facilidade de implementação, uma vez que não há a necessidade do uso de bombas externas. Os modos de injeção eletrocinética que podem utilizados são o *floating*, *pinched* ou *gated,* sendo que a diferença entre esses métodos consiste no arranjo de potenciais aplicados que definem o *plug* de amostra a ser analisada (FRAZIER; JAMES; NURSTEN, 2000; PINHEIRO; REZENDE; COLTRO, 2021; SAHORE *et al*., 2016).

1.5.1.2 DETECÇÃO CONDUTOMÉTRICA SEM CONTATO (C^4D)

Os MSE podem ser acoplados a diversos métodos de detecção, como por exemplo os detectores ópticos, a espectrometria de massas e detecção eletroquímica (HASSAN, 2020; LACHER *et al*., 2001; LI; CAI; LIN, 2006; NIELSEN *et al*., 2019). A detecção eletroquímica apresenta vantagens como baixo custo e facilidade de integração aos microcanais. Dentre os modos eletroquímicos, destacam-se os detectores amperométricos, condutométricos e potenciométricos (COLTRO *et al*., 2007; VANDAVEER *et al*., 2004).

No que se refere aos detectores condutométricos, eles vêm sendo amplamente empregado em sistemas miniaturizados. Esse tipo de detecção possui dois tipos de sistemas: detecção condutométrica com contato ou sem contato. Nestes dois tipos de sistemas, o sinal analítico surge da diferença de condutividade entre o analito e o eletrólito de análise, entretanto, no sistema por contato, os eletrodos são posicionados diretamente em contato com a solução, e isso acaba apresentando alguns problemas na presença de um campo elétrico, como por exemplo a formação de bolhas causadas pela eletrólise e também a degradação dos eletrodos (CHEN *et al*., 2007; COLTRO *et al*., 2012; VANDAVEER *et al*., 2004).

Já no modo de detecção condutométrica sem contato, conhecida como C^4D (*Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection*) os eletrodos são posicionados externamente ao microcanal, prevenindo os problemas relacionados ao modo com contato (PINHEIRO, 2018; BRITO-NETO, *et al.*, 2005).

Conforme demonstrado na Figura 5, o sistema C^4D é composto por dois eletrodos, um de excitação e outro de recepção, posicionados externamente ao microcanal de separação com uma certa distância entre eles (DUARTE JUNIOR, 2019).

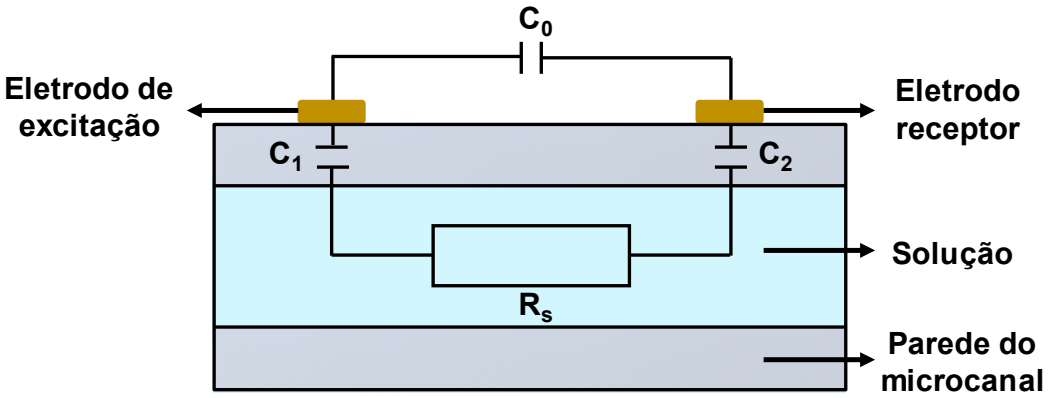


Figura 5 - Esquema de uma cela de detecção C^4D, sendo, C_1 e C_2 as capacitâncias formadas na parede do microcanal, C_0 a capacitância direta entre os eletrodos e R_s a resistência da solução.

O funcionamento desse tipo deteção consiste na aplicação de um sinal senoidal de alta frequência no eletrodo de excitação. A corrente que flui entre os eletrodos é dependente da condutividade do meio. Essa corrente é captada pelo eletrodo receptor e então encaminhada a um circuito de tratamento, amplificação e conversão para se tornar um sinal analítico representado por meio de um eletroferograma (DUARTE JUNIOR, 2019).

Existem numerosos estudos que abordam extensivamente as aplicações de MSE-C^4D (COLTRO *et al*., 2012; FREITAS *et al*., 2016; KUBÁŇ; HAUSER, 2013; SAITO; COLTRO; DE JESUS, 2012; SANTOS *et al*., 2024).

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método analítico para separação e detecção da SCO e BSCO em amostras de bebidas, urina e comprimidos de Buscopan® utilizando MSE-C^4D, visando a aplicação no âmbito forense.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar os parâmetros instrumentais e operacionais para estudo da SCO e BSCO utilizando MSE- C^4D;
- Avaliar a performance do método desenvolvido;
- Analisar SCO e BSCO em amostras de bebidas e urina;
- Investigar a degradação térmica da BSCO presente no Buscopan® e sua conversão em SCO;
- Avaliar a versatilidade da técnica MSE-C^4D na separação e detecção de drogas usadas para fins recreativos ou criminosos.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 REAGENTES

Os reagentes utilizados estão detalhados na Tabela 1, juntamente com suas fórmulas moleculares, massas molares, fabricantes e purezas.

Tabela 1 - Reagentes usados e suas respectivas fórmulas moleculares, massas molares, fabricantes e purezas.

Reagentes	Fórmula molecular	Massa molar ($g\ mol^{-1}$)	Fabricante	Pureza (%)
Ácido butírico (HBut)	$C_4H_8O_2$	88,11	Sigma Aldrich	≥ 99,9
Ácido cítrico	$C_6H_8O_7$	192,13	Neon	> 95,0
Ácido fórmico (HFor)	CH_2O_2	46,03	Sigma Aldrich	≥ 99,9
Ácido lático	$C3H_6O_3$	90,08	Sigma Aldrich	> 85,0
Bicarbonato de sódio	$NaHCO_3$	84,01	Sigma Aldrich	≥ 99,7
N-butil brometo de escopolamina (BSCO)	$C_{21}H_{30}BrNO_4$	440,37	Sigma Aldrich	≥ 99,9
Escopolamina (SCO)	$C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr \cdot 3H_2O$	438,31	Sigma Aldrich	≥ 99,9
Cloreto de amônio	NH_4Cl	53,49	Sigma Aldrich	≥ 99,5
Cloreto de cálcio dihidratado	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	147,01	Sigma Aldrich	≥ 99,0

Cloreto de magnésio hexahidratado	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	203,30	Sigma Aldrich	≥ 99,0
Cloreto de sódio	NaCl	58,44	Sigma Aldrich	≥ 99,5
Fosfato de sódio dibásico	Na_2HPO_4	141,96	Sigma Aldrich	≥ 98,0
Fosfato de sódio monobásico	NaH_2PO_4	119,98	Sigma Aldrich	≥ 99,0
Hidróxido de Sódio	NaOH	40,00	Sigma Aldrich	≥ 98,0
Nitrato de Sódio	$NaNO_3$	84,99	Neon	≥ 99,0
Metanol (MeOH)	CH_3OH	32,04	Sigma Aldrich	≥ 99,8
Sulfato de sódio	Na_2SO_4	142,04	Sigma Aldrich	≥ 99,0
Ureia	NH_2CONH_2	60,06	Sigma Aldrich	≥ 99,0

Soluções estoque foram preparadas semanalmente, com concentrações de 100 mmol L^{-1} para HBut e NaOH, e 10 mmol L^{-1} para SCO e BSCO. Esses preparos foram realizados utilizando água ultrapura com resistividade igual ou superior a 18,2 MΩ cm (Millipore, Kansas City, MO, EUA). Diferentes concentrações e valores de pH foram testadas para o tampão composto por HBut e NaOH. Antes das análises, as soluções foram filtradas com filtro de seringa contendo membrana de *Nylon*® com poros de 0,22 µm de diâmetro. Além disso, todas as diluições foram feitas com água ultrapura e os experimentos foram realizados à temperatura ambiente de 23 ± 1°C.

3.2 INSTRUMENTAÇÃO

Os experimentos foram realizados usando um sistema de eletroforese em microchip Quad HV (modelo ER455) obtido da eDAQ (Denistone East, NSW, Austrália). Este sistema contém uma fonte de alta tensão (Modelo ER230), um detector C^4D e uma plataforma microfluídica (modelo ET225) para acomodar o microchip de eletroforese (modelo ET190 da *Micronit Microfluidics*, Enschede, Holanda), conforme pode ser visto na Figura 6. Para o controle do potencial aplicado foi utilizado o software Sequencer™ e para registrar o sinal analítico foi utilizado o software PowerChrom®.

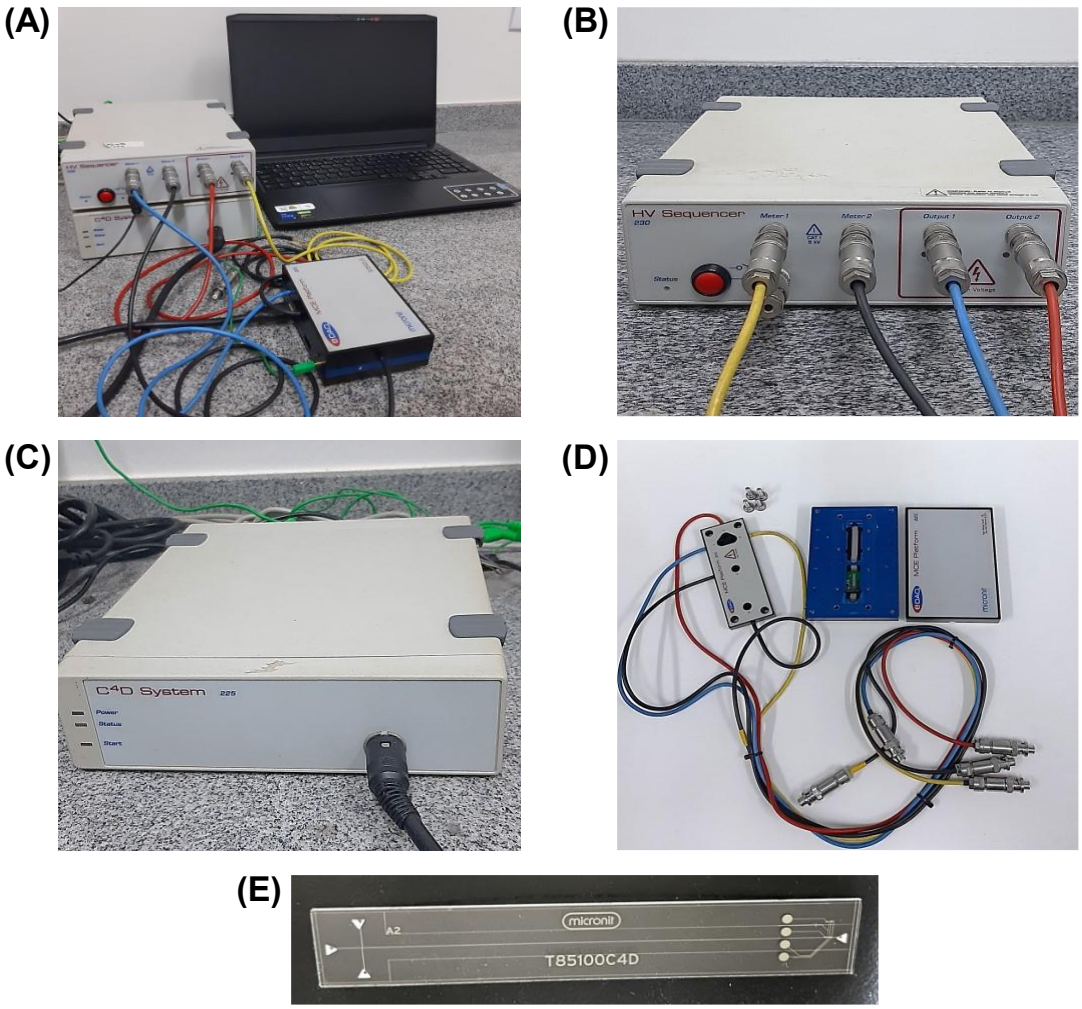


Figura 6 - (A) Instrumentação para MSE-C^4D, **(B)** fonte de alta tensão, **(C)** detector, **(D)** plataforma e **(E)** microchip comercial de vidro.

As separações eletroforéticas foram realizadas em microchip de vidro

comercial (modelo ET190 da *Micronit Microfluidics*, Enschede, Holanda) com comprimento de 90 mm, largura de 15 mm, espessura de 1,1 mm e geometria em duplo-T. Um esboço do microchip, suas dimensões e os reservatórios de amostra (A), tampão (T), descarte da amostra (DA) e descarte do tampão (DT) podem ser vistos na Figura 7A. Os microcanais possuem largura de 100 µm e profundidade de 10 µm. Conforme pode ser observado na Figura 7B, o menor microcanal possui comprimento de 9 mm, já o maior microcanal tem comprimento total e efetivo de 85 mm e 77 mm, respectivamente.

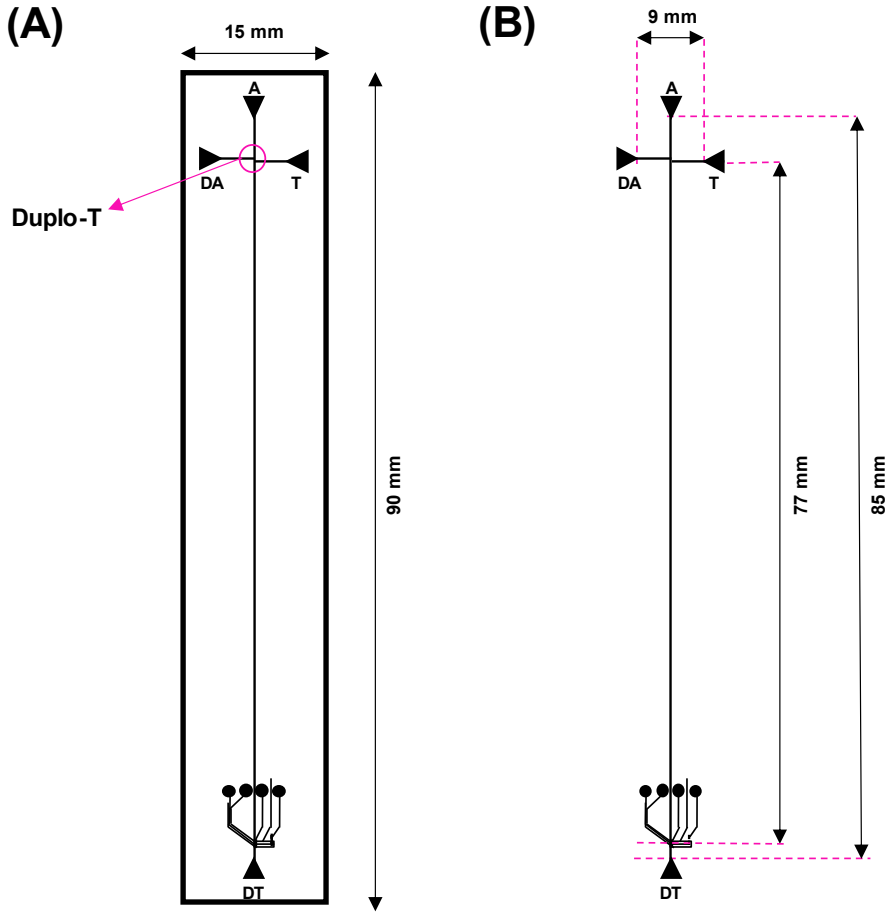


Figura 7 - Em **(A)** modelo do microchip eletroforético, com comprimento de 90 mm e largura de 15 mm. **(B)** comprimento total e efetivo do canal de separação, sendo de 85 mm e 77 mm, respectivamente e comprimento total do canal de injeção com 15 mm. Com A, DA, T e DT sendo a representação do reservatório da amostra, descarte da amostra, tampão e descarte do tampão, respectivamente.

O dispositivo MSE contém dois pares de eletrodos integrados (200 µm de largura × 500 µm de comprimento × 200 nm de espessura) feitos de platina

e camada de adesão de tântalo depositada na superfície inferior para medições C^4D, que foram posicionados a 70 mm do canal de interseção.

A área de detecção do microchip consiste em um par de eletrodos de trabalho, um atuando como eletrodo de excitação e o outro como eletrodo receptor, e a distância entre eles é de 250 µm. Também são incluídos dois eletrodos de referência para reduzir interferências causadas pela capacitância difusa, juntamente com quatro pontos circulares que facilitam o contato elétrico. Devido à baixa capacitância, é aplicado uma frequência elevada no eletrodo de excitação, que é captada pelo eletrodo receptor. O sinal resultante é obtido na forma de corrente elétrica e é diretamente relacionado à diferença de condutividade do analito e do tampão (MOREIRA *et al*., 2017; REZENDE *et al*., 2016).

3.3 OTIMIZAÇÃO DA FREQUÊNCIA OPERACIONAL E AMPLITUDE DO C^4D

Para obter-se melhores níveis de detectabilidade, foi realizado a otimização dos parâmetros operacionais do C^4D utilizando o tampão composto de 40 mmol L^{-1} de HBut e 25 mmol L^{-1} de NaOH (pH = 5,0), a escolha deste tampão é devido ele apresentar alta condutividade e possibilitar a detecção das espécies de interesse, SCO e BSCO.

Essa otimização foi realizada empregando o software PowerChrom® na função C^4D *profiler*. Para isso, inicialmente os canais do microchip foram preenchidos com o tampão de análise e a resposta do C^4D foi acompanhada em diferentes frequências operacionais e amplitudes, abrangendo um intervalo de 100 a 1200 kHz e de 2 a 20 V_{pp}, respectivamente. É importante destacar que o modo de ganho do detector foi mantido desligado (*Headstage gain off*), e, portanto, a amplitude máxima (100%) da onda senoidal correspondeu a 20 V_{pp}.

Posteriormente, realizou-se a mesma varredura, porém com os canais do chip preenchidos com o tampão diluído em 5% v/v. Verificou-se a maior diferença na condutividade entre o tampão e o tampão 5%, com o objetivo de identificar o maior sinal como condição ideal.

3.4 PROCEDIMENTOS ELETROFORÉTICOS

Antes das análises, os microcanais foram pré-condicionados eletrocineticamente no modo *floating* com NaOH 0,1 mol L^{-1} por 20 min aplicando-se potencial de 400 V e 800 V, respectivamente. Esse processo é importante para promover a desprotonação dos grupos silanóis presentes nas paredes dos microcanais. Para diminuir o excesso de NaOH, os microcanais foram lavados por 10 min com água ultrapura 18,2 MΩ cm (Millipore, Kansas City, MO, USA) com a aplicação de potenciais de 300 V e 500 V, respectivamente. Após isso, foi feito o condicionamento no modo *gated* por 15 min com tampão e aplicando-se potencial de 900 V.

Em seguida, a amostra foi introduzida nos microcanais no modo *gated*. Na Figura 8, é possível observar o processo de introdução da amostra nesse modo.

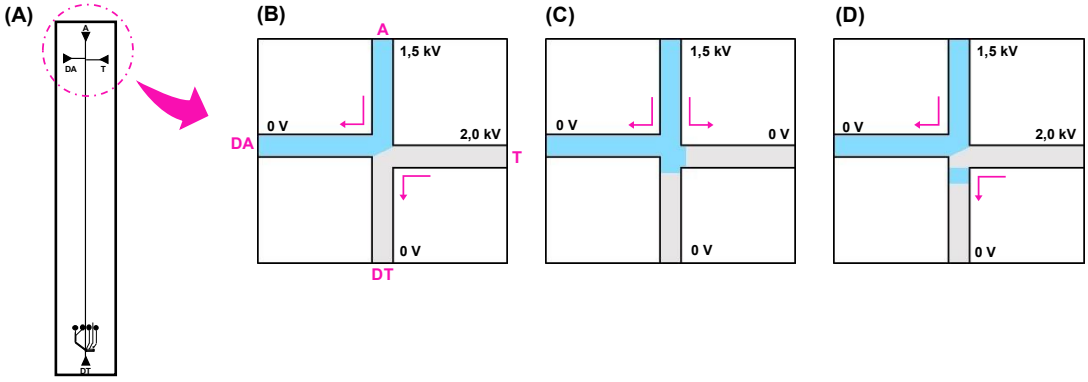


Figura 8 - Processo de introdução da amostra pelo modo *gated* e os respectivos potenciais empregados nas análises. Em **(A)**, observa-se a representação do microchip de eletroforese com configuração em duplo-T. **(B**) o preenchimento dos canais com tampão e amostra aplicando potenciais de 1,5 kV e 2,0 kV nos reservatórios A e T, respectivamente, mantendo os demais aterrados. **(C)** Introdução do plug de amostra ao desligar por 1s o potencial 2,0 kV, aplicado no reservatório T, mantendo os demais aterrados. Em **(D)**, quando o potencial 2,0 kV e reestabelecido, promovendo a introdução de uma zona de amostra no interior do canal de separação.

A Figura 8A demonstra o local do microchip em que é representado nas próximas etapas. Conforme pode ser visto na Figura 8B, inicialmente foram aplicados simultaneamente os potenciais de 1,5 kV e 2,0 kV nos reservatórios A e T, respectivamente, mantendo os demais aterrados, propiciando o preenchimento do canal de amostragem. Em seguida, o potencial aplicado no reservatório T foi desligado por um intervalo de 1 s, para introdução do *plug*

de amostra na intersecção do microcanal (Figura 8C) e então, esse potencial é ligado novamente, promovendo uma zona de amostra no canal de separação e a migração das espécies para zona de detecção (Figura 8D).

3.5 BEBIDAS, URINA E AMOSTRAS DE COMPRIMIDOS DE BUSCOPAN®

Diferentes amostras foram selecionadas para avaliar o efeito de matriz; assim, seis amostras de bebidas (cachaça, vodca, uísque, cerveja, refrigerante de coca e suco de uva) foram adquiridas em uma loja local (Goiânia, GO). Amostras de cerveja e refrigerante de coca foram submetidas a sonicação por aproximadamente 10 min (remoção de gases dissolvidos) usando uma limpeza ultrassônica (QUIMIS Q335D; com frequência ultrassônica de 40 kHz).

A urina artificial foi preparada de acordo com o procedimento descrito por (BROOKS; KEEVIL, 1997) e (MOREIRA *et al*., 2020), com modificações. Uma mistura contendo ácido lático (1,1 mmol L^{-1}), ácido cítrico (2,0 mmol L^{-1}), bicarbonato de sódio (2,5 mmol L^{-1}), cloreto de amônio (25,0 mmol L^{-1}), cloreto de cálcio (2,5 mmol L^{-1}), cloreto de magnésio hexahidratado (2,0 mmol L^{-1}), cloreto de sódio (9,0 mmol L^{-1}), fosfato de sódio monobásico monohidratado (7,0 mmol L^{-1}), fosfato de sódio dibásico (7,0 mmol L^{-1}), sulfato de sódio (10,0 mmol L^{-1}) e ureia (170 mmol L^{-1}) foram preparados em água ultrapura.

Os comprimidos de Buscopan® contendo 10 mg de BSCO foram adquiridos em uma farmácia local. Dez comprimidos foram pesados (massa total: 1,5155 g) e macerados para testes de dosagem e recuperação. Em seguida, a massa de 0,3334 g do pó macerado foi adicionada à 5 mL de água ultrapura e homogeneizada.

Para análise da degradação térmica do BSCO em SCO, foi utilizada a massa de 0,1519 g (considerando a massa de um comprimido) do pó previamente macerado. Em seguida, o pó foi adicionado a um béquer, aquecido em bico de Bunsen por 1 min e dissolvido em 5 mL de água ultrapura. A escolha dessa condição de aquecimento (Bico de Bunsen), baseou-se no estudo realizado por Ribeiro *et al*. (2022).

Antes da análise, todas as amostras foram filtradas através de filtros de nylon com poros de 0,22 µm. As amostras de bebida e urina foram diluídas 10 vezes e o Buscopan® foi diluído 5 vezes, todas em água ultrapura. Essas diluições foram realizadas com o objetivo de ajustar as concentrações das amostras dentro da faixa de detecção adequada da curva analítica (25 a 200 µmol L^{-1}).

3.6 ELETROFORESE CAPILAR ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CE-MS)

O sistema de eletroforese capilar acoplado à espectrometria de massas (CE-QTOF-MS) foi utilizado neste estudo para confirmar a conversão térmica de BSCO em SCO e pode ser observado na Figura 9.

Figura 9 - Sistema composto por um equipamento de eletroforese capilar desenvolvido pela Agilent Technologies modelo 7100 acoplado a um detector de espectrometria de massas modelo 6545 com fonte de ionização por eletrospray (ESI). **(A)** CE; **(B)** MS; **(C)** computadores; **(D)** gerador de nitrogênio; **(E)** cilindro de nitrogênio 5.0 e **(F)** capilar de sílica.

Este sistema é composto por um equipamento de eletroforese capilar desenvolvido pela Agilent Technologies modelo 7100 acoplado a um detector de espectrometria de massas modelo 6545 com fonte de ionização por *eletrospray* (ESI). As análises foram realizadas usando um capilar de sílica de 40 cm de comprimento e 50 µm de diâmetro interno com um revestimento externo de poliimida, fornecido pela Agilent Technologies.

Antes da análise, o capilar foi lavado com NaOH 0,1 mol L^{-1} por 30 min, seguido de água ultrapura e eletrólito por 15 e 30 min, respectivamente. A

injeção da amostra foi realizada hidrodinamicamente, aplicando 100 mbar por 10 s. A tensão de separação foi fixada em 30 kV. O *sheath liquid* foi composto por 10,0 mmol L^{-1} de ácido fórmico com 50% v/v de água e metanol. O eletrólito foi composto por 200 mmol L^{-1} de ácido fórmico e 20% (v/v) de metanol (pH = 2,2). As análises foram realizadas no modo positivo e os espectros de massa foram obtidos cobrindo a região entre 100-400 *m/z*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OTIMIZAÇÃO DO TAMPÃO DE ANÁLISE

Conforme relatado por Ribeiro *et al*. (2022), o tampão de análise composto por HBut e NaOH apresentou o melhor desempenho para determinação simultânea de SCO e BSCO usando CE-C^4D convencional, portanto, esse tampão foi escolhido e otimizado para obter melhores condições de separação para uma mistura contendo SCO e BSCO (100 µmol L^{-1} cada). Apesar da SCO e BSCO possuírem massas molares e estruturas muito semelhantes (Figura 1 e 2), a separação é possível uma vez que a mobilidade das espécies depende do valor do pH do tampão.

A SCO é uma base fraca com valor de pKa de 7,75 e está predominantemente em sua forma catiônica em soluções com valores de pH inferiores a 7,75 devido ao grupo nitrogênio terciário dentro de seu anel tropano (BROWN *et al*., 2020; RIBEIRO *et al*., 2022). Por outro lado, a BSCO é uma amina quaternária e, portanto, é carregada positivamente na faixa de pH (2-12) útil na eletroforese de zona. Além disso, a BSCO possui um raio hidrodinâmico maior que da SCO (ver Figura 1 e 2), principalmente devido à presença do grupo butil, que também contribui para a diferença de mobilidade eletroforética entre essas duas espécies, resultando em um tempo de migração maior para o BSCO em comparação para SCO (CHEN *et al*., 2017; RIBEIRO *et al*., 2022).

Sendo assim, o pH do tampão de análise foi avaliado na faixa de pH 4,0 a 5,5 na vizinhança do valor pka de HBut (~4,8). Neste estudo, a concentração de HBut em todas as soluções foi fixada em 20 mmol L^{-1} e diferentes concentrações de bases conjugadas (butirato de sódio) foram geradas pela adição de diferentes concentrações de NaOH (3, 7, 13 e 17 mmol L^{-1}). Assim, soluções tampão com valores de pH de 4,0, 4,5, 5,0 e 5,5 foram preparadas, respectivamente (MELANSON; LUCY, 2000; RIBEIRO *et al*., 2022; TYL; SADLER, 2017).

Como pode ser observado na Figura 10A, as melhores condições de separação e detecção foram obtidas em pH 5,0 (HBut 20 mmol L^{-1}/ NaOH 13

mmol L^{-1} ou HBut 7 mmol L^{-1}/ NaBut 13 mmol L^{-1}). Posteriormente, o efeito da força iônica foi avaliado no valor de pH de 5,0. A força iônica em um eletrólito desempenha um papel crucial em dois aspectos.

Primeiro, o aumento da força iônica está diretamente relacionado ao aumento da corrente elétrica, o que pode causar problemas de aquecimento e gerar ruído indesejado. Em segundo lugar, à medida que a força iônica diminui, a dispersão eletromigrativa aumenta, resultando em eficiências de pico reduzidas. Portanto, a força iônica ideal deve equilibrar a minimização da corrente para evitar ruído enquanto mantém boas eficiências de separação (BAHGA; BERCOVICI; SANTIAGO, 2010; DIVAN, 1997).

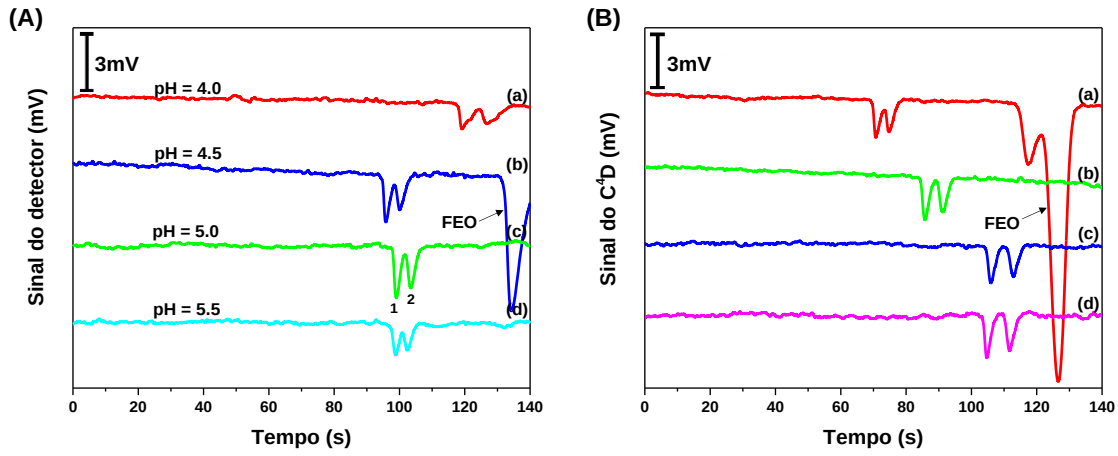


Figura 10 - Eletroferogramas mostrando a otimização da composição do tampão **(A)** com a variação de pH de (a) 4,0; (b) 4,5; (c) 5,0; (d) 5,5 adicionando diferentes concentrações de NaOH, (a) 3, (b) 7, (c) 13 e (d) 17 mmol L^{-1} às soluções, mantendo a concentração de HBut constante em 20 mmol L^{-1}; **(B)** Avaliação da força iônica da solução tampão em pH 5,0: (a) 10 mmol L^{-1} HBut e 3 mmol L^{-1} NaOH; (b) 20 mmol L^{-1} HBut e 13 mmol L^{-1} NaOH; (c) HBut 30 mmol L^{-1} e NaOH 19 mmol L^{-1}; (d) HBut 40 mmol L^{-1} e NaOH 25 mmol L^{-1}. Concentrações: 100 µmol L^{-1} de **(1)** SCO e **(2)** BSCO. Controle eletrocinético: as tensões aplicadas aos reservatórios de amostra e tampão foram de 1,5 kV e 2,0 kV, respectivamente. Tempo de injeção: 1 s. Parâmetros de detecção: onda senoidal de 1200 kHz com amplitude de 20 V_{pp}.

Melhor detectabilidade e eficiência de separação foram obtidas usando um tampão de corrida pH 5,0 contendo HBut 40 mmol L^{-1}/ NaOH 25 mmol L^{-1} ou HBut 15 mmol L^{-1}/ NaBut 25 mmol L^{-1} (Figura 10B).

4.2 OTIMIZAÇÃO DOS POTENCIAIS

A injeção eletrocinética foi realizada no modo *gated* (BLAS;

DELAUNAY; ROCCA, 2008; PINHEIRO; REZENDE; COLTRO, 2021), portanto, para controlar melhor o transporte microfluídico, os potenciais aplicados nos reservatórios da amostra e do tampão foram otimizados. Os respectivos reservatórios de amostra (RA) e tampão (RT) dos microdispositivos eletroforéticos podem vistos na Figura 7.

Inicialmente, o potencial aplicado no RT foi mantido constante em 2,0 kV e o potencial aplicado no RA foi variado de 1,1 a 1,5 kV, em incrementos de 0,2 kV. Subsequentemente, o potencial aplicado no RA foi mantido constante em 1,5 kV, enquanto o potencial aplicado no RT variou de 1,8 a 2,2 kV, em incrementos de 0,2 kV. Os melhores resultados (Figuras 11A e 11B) foram obtidos aplicando-se potenciais de 1,5 e 2,0 kV no RA e RT, respectivamente.

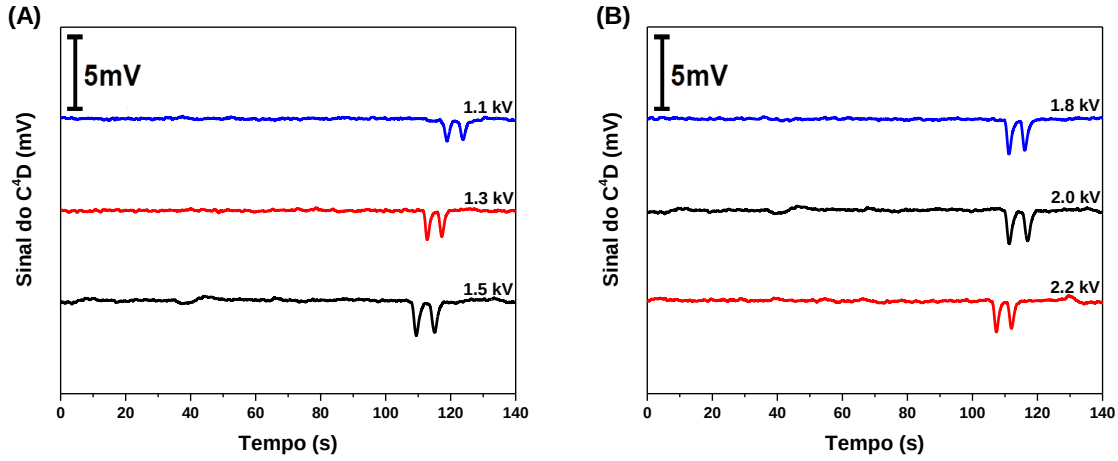


Figura 11 - Eletroferogramas mostrando a otimização do potencial. **(A)** O potencial aplicado no reservatório do tampão foi mantido constante em 2,0 kV e o potencial aplicado no reservatório de amostra variou de 1,1 a 1,5 kV, com incrementos de 0,2 kV. **(B)** O potencial aplicado no reservatório da amostra foi mantido constante em 1,5 kV, enquanto o potencial aplicado no reservatório tampão em execução variou de 1,8 a 2,2 kV, com incrementos de 0,2 kV. Tampão: 40 mmol L^{-1} HBut e 25 mmol L^{-1} NaOH. Tempo de injeção: 1s. Parâmetros de detecção: frequência de 1200 kHz com amplitude de 20 V_{pp}. Os analitos foram testados a 100 µmol L^{-1} de SCO e BSCO, cada.

Na Tabela 2 a seguir, nota-se que os valores de resolução apresentaram semelhança, não revelando diferenças significativas. No entanto, ao aplicar potenciais de 1,5 kV e 2,0 kV no RA e RT, respectivamente, observou-se um aumento nas áreas dos picos.

Tabela 2 - Análise das áreas de pico para SCO e BSCO, juntamente com a resolução entre eles, considerando a influência da variação do potencial aplicado no RA (1,1 a 1,5 kV), mantendo o potencial aplicado no RT constante em 2,0 kV, e a influência da variação do potencial aplicado no RT (1,8 a 2,2 kV), mantendo o potencial aplicado no RA constante em 1,5 kV.

	Potencial aplicado (kV)	Área do pico para SCO ($mV\ s^{-1}$)	Área do pico para BSCO ($mV\ s^{-1}$)	Resolução entre os picos
Reservatório da amostra	1,1	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,4 ± 0,2
	1,3	1,9 ± 0,2	2,0 ± 0,2	1,4 ± 0,1
	1,5	3,5 ± 0,2	3,4 ± 0,3	1,4 ± 0,3
Reservatório do tampão	1,8	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,2	1,4 ± 0,2
	2,0	3,5 ± 0,2	3,4 ± 0,3	1,4 ± 0,3
	2,2	2,4 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1,5 ± 0,3

Devido aos resultados apresentados na figura 11 e na tabela 2, os potenciais 1,5 kV e 2,0 kV foram selecionados para testes subsequentes.

4.3 OTIMIZAÇÃO DO TEMPO DE INJEÇÃO

O tempo de injeção da amostra influencia no tamanho do *plug* formado na interseção do microcanal, assim, um aumento no tempo de injeção causa um *plug* de amostra maior na interseção devido a uma maior difusão, gerando picos com intensidades maiores. No entanto, como isso fornece picos mais intensos, também pode gerar menor resolução e eficiência de separação e maior largura de base, além de diminuir a reprodutibilidade (BLAS; DELAUNAY; ROCCA, 2008; PINHEIRO; REZENDE; COLTRO, 2021).

Assim sendo, foi avaliado o tempo de injeção de 1 a 3 s (incrementos de 1s). Embora os picos de 2 e 3 s tenham exibido maior intensidade (Figura 12), constatou-se uma diminuição na resolução. Em 1 s, a resolução (n = 3) obtida foi de 1,4 ± 0,2, ao passo que em 2 s e 3 s foi de 1,1 ± 0,1, indicando a possibilidade de co-migração dos compostos.

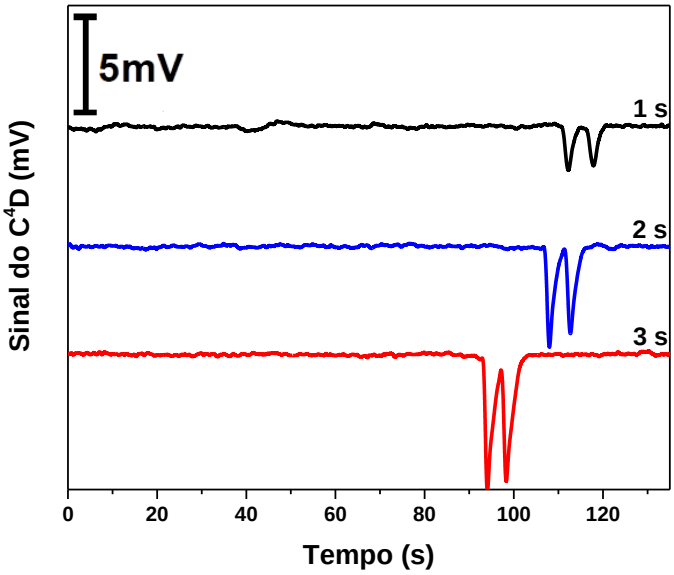


Figura 12 - Eletroferograma mostrando o efeito do tempo de injeção no desempenho de separação do SCO e BSCO.

Dessa forma, o tempo de injeção que proporcionou o melhor resultado em termos de desempenho eletroforético foi de 1 s, conforme pode ser observado na Figura 12 acima.

4.4 OTIMIZAÇÃO DA FREQUÊNCIA OPERACIONAL E VOLTAGEM DE EXCITAÇÃO

Como relatado anteriormente, foi realizado a otimização da frequência operacional e voltagem de excitação (Figura 13) utilizando o software PowerChrom® na função C^{4}D *profiler*, visando uma melhor sensibilidade do C^{4}D. Para isso, a frequência de operação e a tensão de excitação foram escaneadas no tampão e o tampão diluído a 5% v/v, buscando o maior sinal como condição ótima.

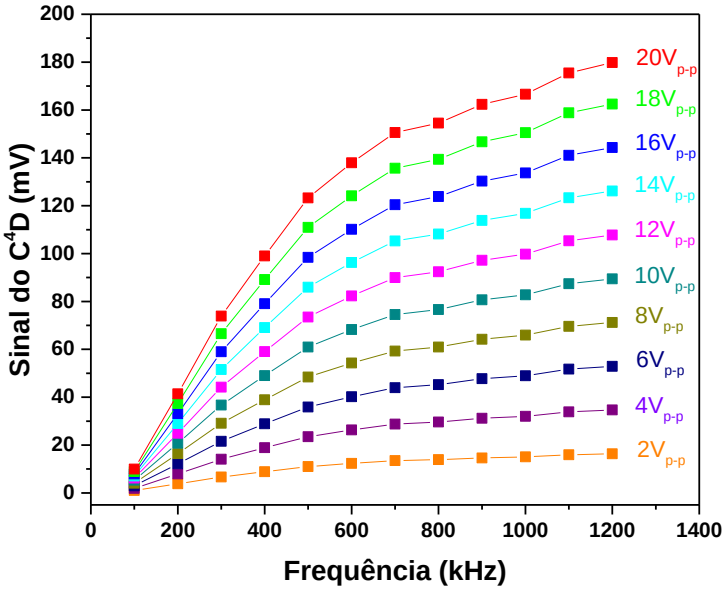


Figura 13 - Otimização da frequência operacional e voltagem de excitação para o tampão HBut 40 mmol L-1 e NaOH 25 mmol L^{-1}, no modo *HG-OFF.*

Conforme mostrado na Figura 13, a melhor resposta foi com a aplicação de uma onda senoidal com frequência de 1200 kHz com voltagem de excitação de 20 V_{pp}. Consequentemente, esses parâmetros operacionais foram mantidos nos experimentos posteriores.

4.5 DESEMPENHO ANALÍTICO

Para avaliar o desempenho analítico visando a determinação simultânea de SCO e BSCO, três injeções consecutivas de uma mistura contendo SCO e BSCO (100 µmol L^{-1} cada) foram realizadas usando as condições otimizadas. A separação das duas drogas foi alcançada em aproximadamente 115 s com resolução de pico de 1,3 e eficiências de separação de $1{,}4\times10^5$ e $1{,}5\times10^5$ pratos m^{-1} para SCO e BSCO, respectivamente.

Referente a resolução, R, ela define o quão bem os componentes de uma mistura estão separados, e pode ser calculada de acordo com a seguinte equação:

$$R = 2 \times \left(\frac{t_{m2} - t_{m1}}{w_{b1} + w_{b2}}\right) \quad \textbf{(6)}$$

Sendo,

t_{m2} = tempo de migração do pico da BSCO

t_{m1} = tempo de migração do pico da SCO

w_{b1} = largura da base do pico da SCO

w_{b2} = largura da base da BSCO

Já a eficiência de separação, N, ela expressa a relação do número de pratos teóricos com o quão estreitos são os picos em um eletroferograma e pode ser mensurada por meio da equação:

$$N = 16 \times \left(\frac{t_m}{W_b}\right)^2 \quad \textbf{(7)}$$

Onde,

t_m = tempo migração do pico

W_b = a largura do pico, medida na base do pico

Pela equação, é perceptível que quanto mais estreitos os picos, maior será a eficiência e melhor a separação (BAKER, 1995).

Além dos parâmetros mencionados, foram construídas curvas de calibração utilizando soluções padrão em diferentes concentrações, variando de 25 a 200 µmol L^{-1} (Figura 14). É importante destacar que as soluções foram analisadas em triplicata e seguindo uma ordem crescente de diluição, sendo que entre cada análise, os microcanais foram lavados eletrocineticamente no modo *gated*, utilizando uma solução tampão durante 900 s. O método proposto demonstrou um comportamento linear para ambas as espécies na faixa de concentração estudada, com coeficientes de correlação (R^2) superiores a 0,99 (Tabela 3).

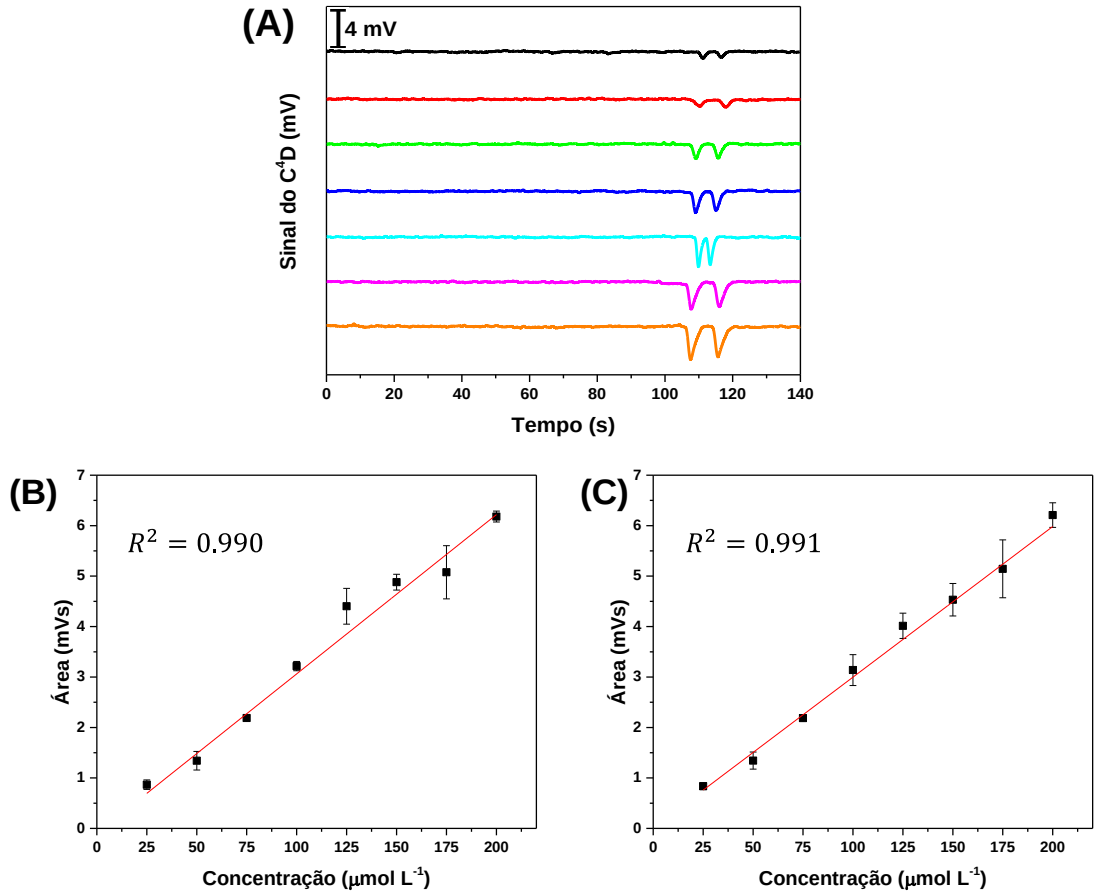


Figura 14 - Eletroferogramas mostrando **(A)** os diferentes níveis de concentração e curva de calibração para **(B)** SCO e **(C)** BSCO.

Os valores do coeficiente de correlação, juntamente com a equação da reta para cada espécie pode ser vista na Tabela 3 abaixo:

Tabela 3 - Coeficientes de correlação e equação da reta para SCO e BSCO.

Analitos	R^2	Equação da reta
SCO	0,990	y = -0,0954 + 0,03157x
BSCO	0,991	y = 0,01238 + 0,02985x

Os valores do limite de detecção (LD) também foram estudados, sendo estimados com base em uma relação sinal-ruído igual a 3 e o valor de 1,1 µmol L^{-1} foi encontrado para ambas as drogas. A equação empregada para o cálculo do LD pode ser observada logo a seguir:

$$LD = 3 \times A_r \times \frac{C}{A} \quad \textbf{(8)}$$

Sendo,

A_r = área do ruído

C = menor concentração do analito

A = área do pico do analito

Já o limite de quantificação (LQ) foi estimado com base em uma relação sinal-ruído de 10 e o valor encontrado para SCO e BSCO foi de 3,7 μmol L^{-1}, podendo ser observado na Equação 9:

$$LQ = 10 \times A_r \times \frac{C}{A} \quad \textbf{(9)}$$

Sendo,

A_r = área do ruído

C = menor concentração do analito

A = área do pico do analito

Avaliou-se também as sensibilidades analíticas, que foram extraídas das inclinações de ambas as curvas de calibração e os valores obtidos foram 3,0 x 10^{-2} e 3,1 x 10^{-2} (mV.s)(μmol L^{-1})$^{-1}$ para SCO e BSCO, respectivamente.

Com um total de quarenta e oito injeções, testes de repetibilidade foram realizados utilizando solução padrão contendo uma mistura de 100 μmol L^{-1} de SCO e BSCO. Os valores de DPR foram inferiores a 3,3% e entre 4,8 e 9,4% para tempo de migração e área de pico, respectivamente. Além disso, a precisão inter-dias também foi avaliada realizando uma sequência de quatro injeções consecutivas em quatro dias diferentes. Os valores de DPR variaram entre 6,0 e 6,6% para as áreas dos picos e foram menores que 2,2% para os tempos de migração, demonstrando assim um ótimo desempenho para a separação de espécies com carga positiva, pesos moleculares e estrutura

muito semelhantes. Esses resultados mostraram que o método proposto apresentou ótimo desempenho para separação rápida de espécies com características físico-químicas semelhantes.

Uma comparação com outras publicações relacionadas à determinação simultânea ou individual de SCO e BSCO foi realizada para avaliar a confiabilidade e o desempenho da análise por MSE-C^4D (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparação do desempenho analítico do método proposto com outros estudos encontrados na literatura.

Método	Analitos	Tempo de análise (min)	Limite de detecção (μmol L^{-1})	Ref.
Potenciometria	SCO	0,25	4,0	(MOSTAFA, 2002)
Voltametriac	SCO	n.r.	0,84	(SANTOS et al., 2014)
BIA-SWV	SCO	n.r.	0,18	(DA COSTA OLIVEIRA et al., 2019)
HPLC-UV	BSCO e atropina	~ 10	0,025	(PAPADOYANNIS et al., 1994)
HPLC-MS/MS	Atropina e SCO	~ 15	0,000046-0,00014	(GONZÁLEZ-GÓMEZ et al., 2022)
UPLC-ESI-MS/MS	BSCO	1,2	0,000023	(FAVRETO et al., 2012)
MISPE-DPX-CE	SCO	~ 1	0,04	(SILVA et al., 2022)
CZE-DAD	Ipratrópio, oxitrópio, BSCO e flutrópio	~ 12	1,0-1,8	(CHERKAOUI et al., 1998)
CE-DAD	Metilescopolamina, BSCO, SCO, apoatropina, atropina e littorine	~ 18	n.r.	(CHERKAOUI et al., 1999a)

CE-DAD	Hiosciamina, SCO, homatropina, oxitrópio, ipratrópio, BSCO, flutrópio, littorina, 6b-hidroxi-hiosciamina, apoatropina e ácido trópico	~ 15	n.r.	(MATEUS et al., 1998)
CE-DAD	Ipratrópio, oxitrópio, flutrópio, BSCO, apoatropina, SCO, atropina e littorine	4,4-13,8	9,0	(CHERKAOUI et al., 1999b)
CE-DAD	Atropina, homatropina, ipratrópio, SCO e BSCO	~7-20	n.r.	(WEDIG; HOLZGRABE, 1999)
CE-C^4D	SCO e atropina	~ 3,5	1,4-5,9	(SÁIZ et al., 2013)
CE-C^4D	BSCO, dipirona, orfenadrina, cafeína, mepiramina e ácido ascórbico	~1	10,0-60,0	(MARRA et al., 2014)
CE-C^4D	Atropina e SCO	1	1,1	(GOŁĄB et al., 2021)
CE-C^4D	SCO e BSCO	1,8	2,4-2,8	(RIBEIRO et al., 2022)
ME-C^4D	SCO e BSCO	1,9	1,1	Este estudo

n.r. = não relatado

Este estudo mostra pela primeira vez a separação e detecção de SCO e BSCO usando uma plataforma miniaturizada. Observando os dados exibidos na Tabela 4, o microdispositivo MSE-C^4D proposto forneceu uma análise mais rápida em comparação com as técnicas convencionais, incluindo HPLC. Também é possível observar que poucos estudos (CHERKAOUI *et al.*, 1999a, 1999b; MATEUS *et al*., 1998; RIBEIRO *et al*., 2022; WEDIG; HOLZGRABE, 1999) analisaram a SCO e a BSCO simultaneamente. Dentre eles, o que obteve o menor tempo de análise foi o proposto por Ribeiro e

colaboradores (2022), no entanto, este estudo apresentou um tempo de análise semelhante. Comparando os valores de LD, este estudo apresenta o menor valor (1,1 µmol L^{-1}), e é o único que utilizou CE-MS para comprovar a conversão de BSCO em SCO por degradação térmica. Além disso, do ponto de vista da portabilidade, o microdispositivo MSE-C^4D proposto tem vantagens indiscutíveis, como diminuição do consumo de amostras e reagentes, da geração de resíduos e por permitir análises em campo

4.6 ANÁLISE DE BEBIDAS, URINA E COMPRIMIDOS DE BUSCOPAN®

Diversas técnicas são utilizadas para detectar e/ou quantificar SCO e outros fármacos em diferentes matrizes, que podem variar desde amostras biológicas até bebidas (BARCELÓ *et al*., 2021; CROWELL; KETCHUM, 1967; DUFAYET *et al*., 2020; FERNÁNDEZ ALONSO *et al*., 2022; LAUWERS *et al*., 1983; LE GARFF *et al*., 2016; LUSTHOF *et al*., 2017; MIRAKHUR, 1978; SÁIZ *et al*., 2013; URIBE *et al*., 2005; VAN SASSENBROECK *et al.*, 2005). O tempo de meia-vida da SCO no plasma é considerado curto, aproximadamente 1,5 h, além disso, nas primeiras 24 horas após a intoxicação, é rapidamente eliminado do organismo. Portanto, é viável analisar evidências que possam indicar vestígios das drogas nessas amostras, portanto, as concentrações de SCO e BSCO usadas em experimentos subsequentes foram escolhidas considerando os dados disponíveis (BARCELÓ *et al*., 2021; CROWELL; KETCHUM, 1967; DUFAYET *et al*., 2020; FERNÁNDEZ ALONSO *et al*., 2022; LAUWERS *et al*., 1983; LE GARFF *et al*., 2016; LUSTHOF *et al*., 2017; MIRAKHUR, 1978; SÁIZ *et al.*, 2013; URIBE *et al*., 2005; VAN SASSENBROECK *et al*., 2005) sobre dosagens letais e ativas identificadas em diferentes matrizes biológicas.

Alguns relatórios mostram que os criminosos muitas vezes adicionam intencionalmente drogas às bebidas com a intenção de cometer roubos ou agressão sexual (LAUWERS *et al*., 1983; LE GARFF *et al*., 2016; SÁIZ *et al*., 2013). Assim, neste estudo amostras de quatro bebidas alcoólicas (cachaça, vodca, uísque e cerveja) e duas bebidas não alcoólicas (refrigerante de coca e suco de uva) foram selecionadas para análise antes e após a adição de

ambos os compostos. Para tanto, todas as amostras foram filtradas e diluídas em água ultrapura por 10 vezes. Testes de recuperação foram realizados usando amostras enriquecidas com SCO e BSCO em dois níveis de concentração (50 µmol L^{-1} e 100 µmol L^{-1}) para avaliar a exatidão do método. Neste estudo foi possível obter valores de recuperação entre 96% e 114%. A Figura 15 mostra os eletroferogramas obtidos para amostras de bebidas antes e depois da adição de SCO e BSCO.

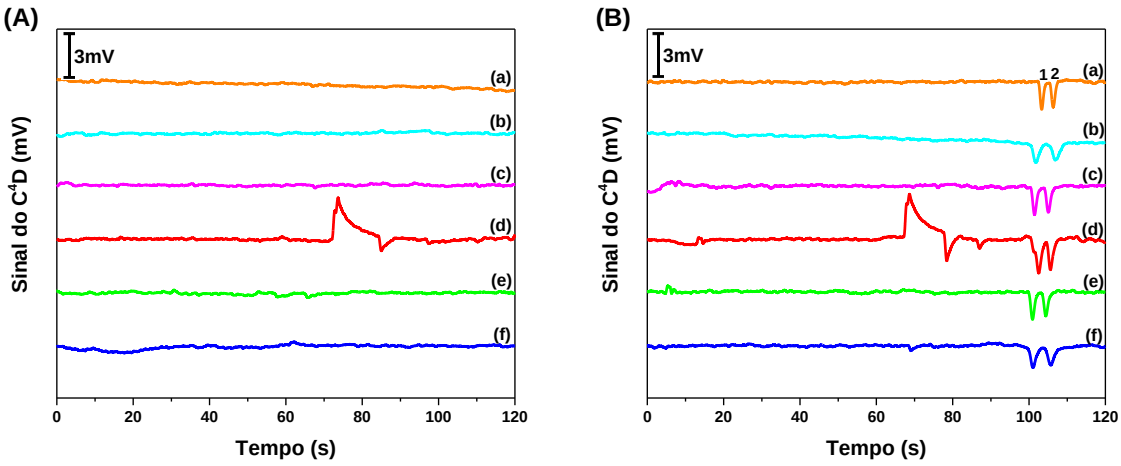


Figura 15 - Eletroferogramas mostrando a detecção das drogas **(1)** SCO e **(2)** BSCO em amostras de bebidas: (a) cachaça, (b) vodca, (c) uísque, (d) cerveja, (e) refrigerante de coca e (f) suco de uva. **(A)** sem dopagem e **(B)** dopagem a um nível de concentração de 50 µmol L^{-1} de SCO e BSCO, respectivamente.

Da mesma forma, uma amostra de urina artificial foi adicionada com dois níveis de concentração (50 µmol L^{-1} e 100 µmol L^{-1}) de SCO e BSCO para simular um teste de urina. Nos testes de recuperação (n = 3), foram obtidos valores variando de 95% a 107%. Os eletroferogramas obtidos com amostras de urina artificial antes e depois da adição de ambos os compostos podem ser vistos na Figura 16.

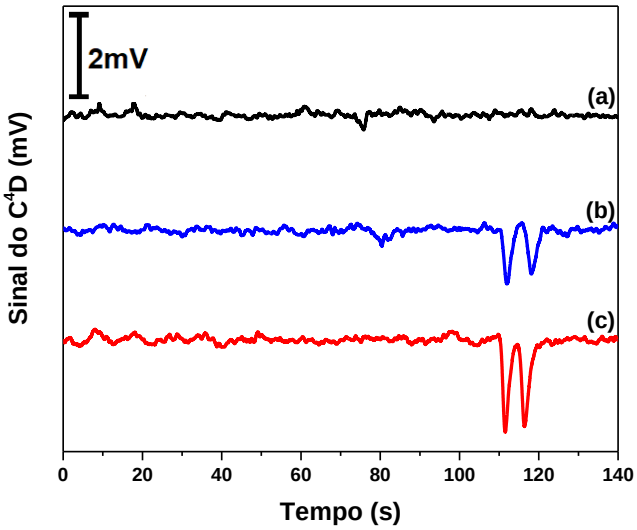


Figura 16 - Eletroferogramas mostrando a detecção de SCO **(1)** e BSCO **(2)** em uma amostra de urina artificial antes (a) e após a adição de 50 µmol L^{-1} (b) e 100 µmol L^{-1} (c) de ambos os compostos.

Para avaliar a interferência de cátions inorgânicos comumente presentes nas bebidas e amostras de urina, foram realizados testes adicionando Na^{+}, Ca^{2+} e Mg^{2+} à solução padrão contendo SCO e BSCO. Para tanto, uma solução contendo 100 µmol L^{-1} de SCO e BSCO foi analisada sem e com adição de 100 e 500 µmol L^{-1} de Na^{+}, Ca^{2+} e Mg^{2+}. Como pode ser visto na Figura 17, em (a) foram observados apenas picos referentes a SCO e BSCO. Após a adição de (b) 100 µmol L^{-1} e (c) 500 µmol L^{-1} de todos os cátions, um terceiro pico foi detectado, porém não interferiu na detecção de SCO e BSCO. É importante ressaltar que nos resultados apresentados, todas as amostras reais foram analisadas após simples diluição (proporção de 1:10 para amostras de bebidas e urina; 1:20 para comprimidos de Buscopan®) em água ultrapura (sem procedimento para eliminação dos cátions inorgânicos). A ausência de picos de Na^{+}, Ca^{2+} e Mg^{2+} provavelmente se deve a dois fatores: (i) diluição da amostra e, (ii) presença de alta concentração de sódio (13 mmol L^{-1}) no tampão de corrida (mobilidade semelhante à dos cátions).

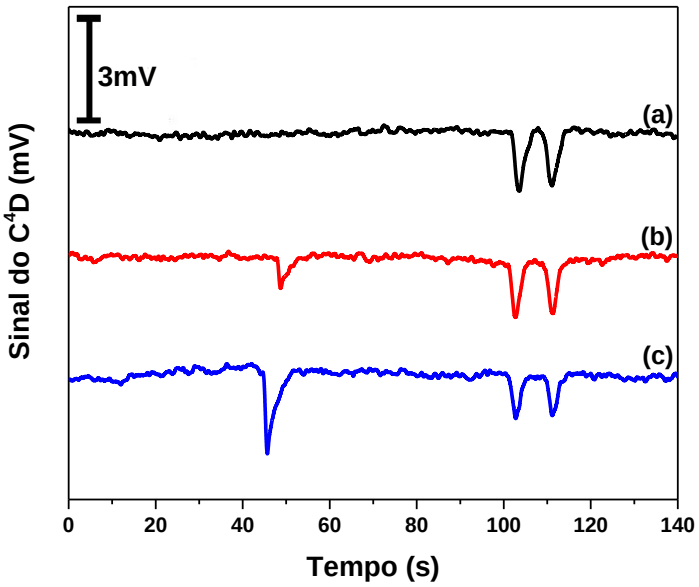


Figura 17 - Análise da interferência de Na^{+}, Ca^{2+} e Mg^{2+} em solução contendo padrões de SCO e BSCO. (a) apenas os padrões SCO e BSCO na concentração de 100 µmol L^{-1}, (b) após adição de concentração de 100 µmol L^{-1} e (c) 500 µmol L^{-1} de cada cátion.

Conforme destacado anteriormente, alguns casos envolvendo a suspeita de obtenção de SCO (droga de abuso) a partir da BSCO (medicamento isento de prescrição) foram encontrados na literatura (FRASCHT *et al*., 2007; KUMMER *et al*., 2016; RIBEIRO *et al*., 2022; STRANO-ROSSI *et al*., 2021).

Assim, um breve estudo foi realizado para confirmar essa conversão e avaliar o uso do MSE-C^4D para essa análise. Inicialmente, foi calculada a quantidade de princípio ativo nos comprimidos de Buscopan® sem aquecimento. A quantidade alcançada de BSCO (10,3 ± 0,8 mg e n = 3) está de acordo com a concentração recomendada para este fármaco pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRAZILIAN HEALTH REGULATORY AGENCY (ANVISA), [s.d.]). Além disso, testes de recuperação foram realizados com soluções preparadas a partir de comprimidos de Buscopan®. Essas soluções amostrais foram analisadas antes e após adição com BSCO (30, 60 e 90 µmol L^{-1}). Valores de recuperação entre 102 a 104% foram alcançados, demonstrando boa exatidão.

O pó dos comprimidos de Buscopan® (massa: 0,1519 g) foi aquecido em bico de Bunsen por 1 min. Em seguida, a amostra aquecida foi solubilizada à temperatura ambiente com água ultrapura em balão volumétrico de 5 mL. Por fim, foi realizada filtração e a solução foi diluída 5 vezes com água ultrapura e analisada por MSE-C^{4}D. Foi possível detectar um segundo pico, não observado anteriormente nos eletroferogramas registrados para Buscopan® (sem aquecimento). Além disso, após o aquecimento do pó de Buscopan®, observou-se diminuição da intensidade do pico e aumento do tempo de detecção da BSCO (Figura 18).

O aumento do tempo de migração na Figura 18 (b) pode ser devido ao aquecimento do Buscopan® ter alterado as propriedades da solução, como solubilidade e viscosidade. Além disso, o pH das soluções da amostra pode afetar a mobilidade eletroforética das espécies. Para confirmar isso, o pH foi medido antes da degradação térmica (pH = 5,83 ± 0,01) e depois (pH = 5,20 ± 0,02). Outro fator a ser considerado, é que os excipientes do comprimido quando aquecidos podem contrubiur para essas alterações na solução, bem como, alterado o FEO. Os excipientes incluem fosfato de cálcio dibásico, amido de milho, dióxido de silício, ácido tartárico, ácido esteárico, povidona, sacarose, talco, goma arábica, dióxido de titânio, macrogol, cera de carnaúba, cera de abelha branca, álcool etílico e água purificada.

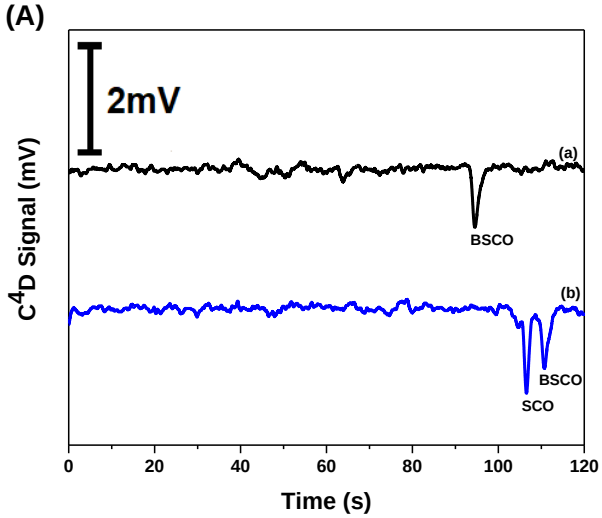
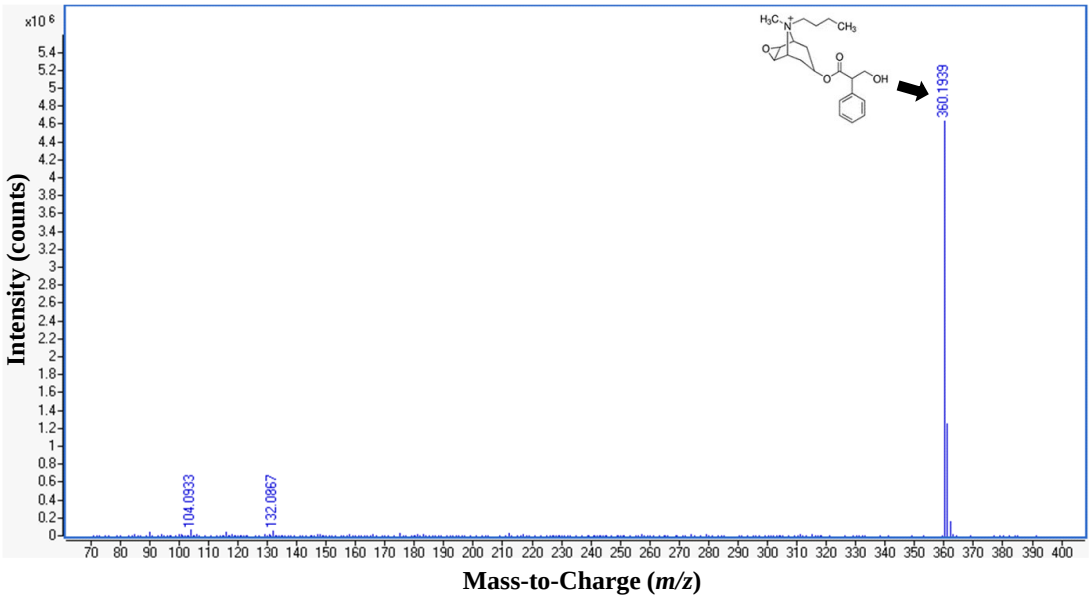


Figura 18 - Resultados do estudo Buscopan® com eletroferogramas mostrando (a) uma concentração de 50 µmol L^{-1} sem degradar e (b) diluído 5 vezes e degradado. Foi utilizado tampão com 40 mmol L^{-1} HBut/But e 25 mmol L^{-1} NaOH (pH 5,0). Controle eletrocinético: as tensões aplicadas aos reservatórios de amostra e tampão foram de 1,5 kV e 2,0 kV, respectivamente. Tempo de injeção: 1 s. Parâmetros de detecção: onda senoidal de 1200 kHz com amplitude pico a pico de 20 V.

Os experimentos de CE-MS (Figura 19) foram realizados inicialmente avaliando os padrões de SCO e BSCO individualmente para confirmar as razões *m/z* de cada espécie. Com base nas massas moleculares, foi possível identificar as duas espécies. É importante ressaltar que a massa representada nos espectros (360,1939 m/z e 304,1320 m/z) é apenas da molécula, desconsiderando a hidratação. Em seguida foram feitas as análises do comprimido de Buscopan® antes e após a degradação.

(A)



(B)

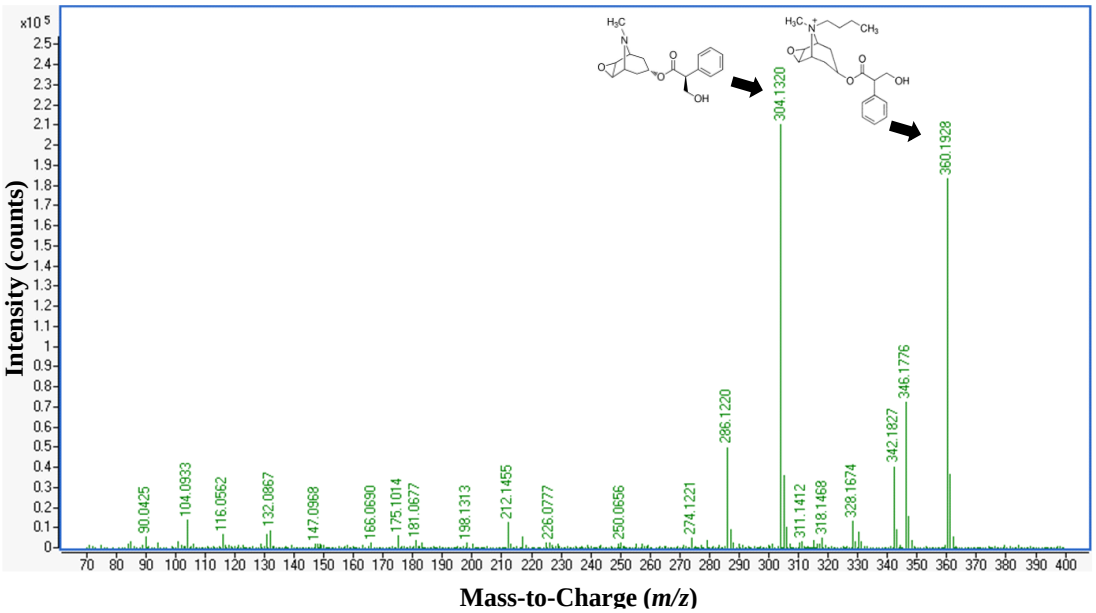


Figura 19 - (A) espectro de BSCO presente no Buscopan® sem degradação e **(B)** espectro de SCO e BSCO após o aquecimento do Buscopan®.

Na Figura 19 é possível observar Buscopan® sem degradar, degradado e suas respectivas massas, confirmando assim a formação da SCO após a degradação. Sendo assim, este estudo demonstra que o acesso ao SCO acaba sendo facilitado, pois, por meio de um medicamento comercializado em diversos países sem a necessidade de prescrição médica, é possível aquecê-lo e obter o SCO. Estudos mais aprofundados sobre a degradação do BSCO por aquecimento, se mostram necessários para elucidar o mecanismo químico de formação do SCO.

Portanto, é fundamental o estudo de amostras envolvendo o SCO e o BSCO, pois auxilia nas investigações forenses e análises clínicas, além de, atrelado ao uso de técnicas miniaturizadas, proporcionar simplicidade instrumental, baixo custo, menor consumo de reagentes e amostras, portabilidade e apresenta bom desempenho analítico. Até onde sabemos, esta é a primeira vez que esses compostos foram analisados usando dispositivos MSE-C^4D, mostrando resultados promissores para outras investigações de drogas com um enorme potencial para análises *on-site*.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

5 CONCLUSÕES

O uso dos dispositivos MSE-C^4D provaram ser uma ferramenta eficiente, rápida e portátil para análise de amostras de interesse forense. Pela primeira vez, os dispositivos MSE foram aplicados com sucesso na separação e determinação de SCO e BSCO em bebidas, urina e amostras farmacêuticas. Com o método desenvolvido e validado, SCO e BSCO foram separadas e detectadas em aproximadamente 115 s com resolução de 1,3 e valores de eficiência variando de 1,4 $x10^5$ a 1,5 $x10^5$ pratos m^{-1}.

O melhor desempenho analítico obtido foi utilizando um tampão composto por 40 mmol L^{-1} de HBut e 25 mmol L^{-1} de NaOH (pH = 5,0) e com a aplicação dos potencias 1,5 kV e 2,0 kV. Os limites de detecção alcançados foram de 1,1 µmol L^{-1} para ambas as espécies, além disso, a metodologia proposta demonstrou linearidade satisfatória com valores de coeficiente de correlação maiores que 0,99 para concentrações entre 25 e 200 µmol L^{-1}, e repetibilidade (quarenta e oito injeções), com valores de desvio padrão inferiores a 3,3% para o tempo de migração e entre 4,8 e 9,4% para as áreas dos picos. Avaliando a precisão interdiária para dezesseis injeções (uma sequência de quatro injeções realizadas em quatro dias), os valores de DPR obtidos foram inferiores a 6,6% para áreas de pico e 2,2% para tempo de migração.

Por fim, a análise da SCO e BSCO em amostras de seis bebidas (cachaça, vodca, uísque, cerveja, coca-cola e suco de uva), urina artificial e de comprimidos de Buscopan® apresentaram resultados promissores, sendo alcançado valores de recuperação entre 95 e 114%.

Além disso, utilizando tanto MSE-C^4D quanto CE-QTOF-MS foi confirmado que a SCO (droga de abuso) pode ser facilmente obtida pela degradação térmica do princípio ativo (BSCO) encontrado em medicamento de venda livre em diversos países do mundo (Buscopan®). Essa constatação torna evidente a necessidade de realizar estudos abrangentes sobre os mecanismos envolvidos na degradação térmica da BSCO e sua conversão em SCO, tanto para a compreensão dos processos químicos envolvidos quanto para a implementação de medidas que garantam a segurança e a

eficácia dos medicamentos e previnam o uso indevido de substâncias como a SCO.

Deste modo, este estudo indicou ser viável na análise de droga de abuso (SCO) e de formulações farmacêuticas (BSCO) presente em diferentes matrizes, tais como bebidas e urina. Os resultados obtidos demonstram o potencial dessa abordagem em aplicações forenses e clínicas. A técnica utilizada é rápida, portátil e gera poucos resíduos, tornando-a altamente vantajosa.

6 PERSPECTIVAS

Devido não terem sido encontrados estudos sobre a degradação térmica da BSCO presente em comprimidos de Buscopan® e sua conversão em SCO, testes futuros visam utilizar a CE-QTOF-MS na análise desse composto para monitorar mais detalhadamente a sua degradação ao longo do tempo, bem como, a sua conversão em SCO.

Essa degradação térmica será avaliada em diferentes condições de calor, como em microondas (para avaliar a possibilidade de se obter de modo caseiro), estufa, chapa de aquecimento, e bico de Bunsen. Contudo, outras possibilidades poderão ser consideradas posteriormente.

Além disso, pretende-se analisar outras versões do Buscopan®, como o Buscopan em gotas, Buscoduo® e Buscopan® Composto. A diferença entre cada um se dá pela composição e uso para cada sensação de dor, sendo que o Buscopan® em comprimidos e em gotas, ambos da embalagem verde, possuem como princípio ativo 10 mg de BSCO e é indicado para dores leves e cólicas na região abdominal. Já o Buscoduo®, que possui embalagem laranja além de conter 10 mg de BSCO, o comprimido revestido de Buscoduo® também é composto por 500 mg de paracetamol e é indicado para dores na barriga de intensidade moderada. Por fim, o Buscopan® Composto que possui embalagem roxa, e em sua formulação contém 250 mg de dipirona monoidratada, além das 10 mg de BSCO, possui ação analgésica e antiespasmódica, indicada para combater dores intensas na região da barriga (BUSCOPAN®, 2022).

Portanto, este estudo será de extrema relevância no contexto científico, pois contribuirá para uma compreensão aprofundada dos mecanismos químicos envolvidos. Além disso, terá um impacto significativo na garantia da estabilidade, segurança e eficácia dos medicamentos, bem como na segurança do paciente. Importante ressaltar que o estudo também servirá como um alerta para a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) sobre a possibilidade de obtenção da substância conhecida como SCO, frequentemente utilizada como droga de abuso e recreativa, por meio de um medicamento de venda livre como o Buscopan®.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

BAHGA, S. S.; BERCOVICI, M.; SANTIAGO, J. G. Ionic strength effects on electrophoretic focusing and separations. **Electrophoresis**, v. 31, n. 5, p. 910–919, 26 mar. 2010.

BAKER, D. R. **Capillary Electrophoresis**. New York: John Wiley & Sons, 1995.

BALÍKOVÁ, M. Collective poisoning with hallucinogenous herbal tea. **Forensic Science International**, v. 128, n. 1–2, p. 50–52, ago. 2002.

BARCELÓ, B. et al. Diminished consciousness in a woman following an unsuspected scopolamine overdose. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 45, n. 6, p. e7–e14, 10 jul. 2021.

BARRETO, D. N. et al. High-throughput screening of cocaine, adulterants, and diluents in seized samples using capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. **Talanta**, v. 217, p. 120987, set. 2020.

BEVAN, J. A. **Essentials of pharmacology: introduction to the principles of drug action**. 2. ed. New York: Rowman & Littlefield Publishers, 1976.

BLAS, M.; DELAUNAY, N.; ROCCA, J.-L. Electrokinetic-based injection modes for separative microsystems. **ELECTROPHORESIS**, v. 29, n. 1, p. 20–32, jan. 2008.

BRAZILIAN HEALTH REGULATORY AGENCY (ANVISA). **Buscopan**. São PauloCosmed Indústria de Cosméticos e Medicamentos S.A, , [s.d.]. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/q/?numeroRegistro=178170890>. Acesso em: 21 mar. 2023.

BRESSAN, L. P. et al. Microchip Electrophoresis Containing Electrodes for Integrated Electrochemical Detection. Em: [s.l: s.n.]. p. 79–85.

BROOKS, T.; KEEVIL, C. W. A simple artificial urine for the growth of urinary pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 24, n. 3, p. 203–206, 1997.

BROWN, K. et al. Tale of two alkaloids: pH-controlled electrochemiluminescence for differentiation of structurally similar compounds. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 2216–2223, 21 jan. 2020.

BROWN, S. D.; MELTON, T. C. Trends in bioanalytical methods for the determination and quantification of club drugs: 2000-2010. **Biomedical Chromatography**, v. 25, n. 1–2, p. 300–321, jan. 2011.

BROWN, S. D.; RHODES, D. J.; PRITCHARD, B. J. A validated SPME-GC–MS method for simultaneous quantification of club drugs in human urine. **Forensic Science International**, v. 171, n. 2–3, p. 142–150, set. 2007.

BUSCOPAN®. **Quais as diferenças entre os 4 tipos de Buscopan®?** Disponível em: <https://www.buscopan.com.br/faq>. Acesso em: 2 jul. 2023.

CASTRO, E. R.; MANZ, A. Present state of microchip electrophoresis: state of the art and routine applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1382, p. 66–85, fev. 2015.

CHEN, J. et al. Tropane alkaloids as substrates and inhibitors of human organic cation transporters of the SLC22 (OCT) and the SLC47 (MATE) families. **Biological Chemistry**, v. 398, n. 2, p. 237–249, 1 fev. 2017.

CHEN, P. et al. Microfluidics towards single cell resolution protein analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 117, p. 2–12, ago. 2019.

CHERKAOUI, S. et al. Validated capillary electrophoresis method for the determination of atropine and scopolamine derivatives in pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 17, n. 6–7, p. 1167–1176, set. 1998.

CHERKAOUI, S. et al. Nonaqueous capillary electrophoresis for the analysis of selected tropane alkaloids in a plant extract. **Chromatographia**, v. 49, n. 1–2, p. 54–60, jan. 1999a.

CHERKAOUI, S. et al. Nonaqueous versus aqueous capillary electrophoresis for the dosage of N-butylscopolamine in various pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 21, n. 1, p. 165–174, out. 1999b.

CHOUBEY, A.; DUBEY, K.; BAHGA, S. S. Rapid prototyping of polydimethylsiloxane (PDMS) microchips using electrohydrodynamic jet printing: Application to electrokinetic assays. **ELECTROPHORESIS**, v. 44, n. 7–8, p. 725–732, 9 abr. 2023.

CHRISTEN, P. Tropane alkaloids: old drugs used in modern medicine. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 22, n. PART C, p. 717–749, 1 jan. 2000.

COLTRO, W. K. T. et al. Microssistemas de análises químicas: introdução, tecnologias de fabricação, instrumentação e aplicações. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1986–2000, 2007.

COLTRO, W. K. T. et al. Capacitively coupled contactless conductivity detection on microfluidic systems—ten years of development. **Anal. Methods**, v. 4, n. 1, p. 25–33, 2012.

COLTRO, W. K. T.; DA SILVA, J. A. F.; CARRILHO, E. Fabrication and integration of planar electrodes for contactless conductivity detection on polyester-toner electrophoresis microchips. **ELECTROPHORESIS**, v. 29, n. 11, p. 2260–2265, jun. 2008.

COSTA, Y. R. DE S.; LAVORATO, S. N.; BALDIN, J. J. C. M. DE C. Violence against women and drug-facilitated sexual assault (DFSA): A review of the main drugs. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 74, p. 102020, ago. 2020.

CROWELL, E. B.; KETCHUM, J. S. The treatment of scopolamine-induced delirium with physostigmine. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 8, n. 3, p. 409–414, maio 1967.

DA COSTA OLIVEIRA, T. et al. Electrochemical portable method for on-site screening of scopolamine in beverage and urine samples. **Electroanalysis**, v. 31, n. 3, p. 567–574, 14 dez. 2019.

DE ARAUJO, W. R. et al. Portable analytical platforms for forensic chemistry: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1034, p. 1–21, nov. 2018.

DE QUEIROZ, S. C. DO N.; JARDIM, I. C. S. F. Eletroforese capilar. **Revista Chemkeys**, n. 8, p. 1–9, 17 set. 2018.

DINIS-OLIVEIRA, R. J.; MAGALHÃES, T. Forensic toxicology in drug-facilitated sexual assault. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 23, n. 7, p. 471–478, 20 set. 2013.

DIVAN, K. Improved separation and detection of inorganic ions by capillary electrophoresis. **Progress in Ion Exchange**, p. 176–186, 1 jan. 1997.

DUARTE JUNIOR, G. F. **Eletroforese em microssistemas: desenvolvimento instrumental, microfabricação e análise de nitrosotióis**. Tese (Doutorado em Química)—Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 27 jul. 2019.

DUFAYET, L. et al. Attempt of scopolamine-facilitated robbery: an original case of poisoning by inhalation confirmed by LC–MS/MS and review of the literature. **Forensic Toxicology**, v. 38, n. 1, p. 264–268, 31 jan. 2020.

EFFENHAUSER, C. S.; MANZ, ANDREAS.; WIDMER, H. MICHAEL. Glass chips for high-speed capillary electrophoresis separations with submicrometer plate heights. **Analytical Chemistry**, v. 65, n. 19, p. 2637–2642, 1 out. 1993.

ELBASHIR, A. A. et al. Application of capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection (CE-C4D): 2017–2020. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 52, n. 3, p. 535–543, 3 abr. 2022.

ERRO, E. M.; ORTIZ, P. I. A comparative study of different microchips for capillary electrophoresis with electrochemical detection. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 44, n. 12, p. 1393–1399, 1 dez. 2014.

FAVRETO, W. A. J. et al. Development and validation of a UPLC-ESI-MS/MS method for the determination of N-butylscopolamine in human plasma: Application to a bioequivalence study. **Drug Testing and Analysis**, v. 4, n. 3–4, p. 215–221, mar. 2012.

FERNÁNDEZ ALONSO, C. et al. Sumisión química por «burundanga» o escopolamina. **Revista Española de Medicina Legal**, v. 48, n. 2, p. 74–77, abr. 2022.

FRASCHT, M. et al. Formation of scopolamine from N-butyl-scopolammonium bromide in cigarettes. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 31, n. 4, p. 220–223, 1 maio 2007.

FRAZIER, R. A.; JAMES, J. M.; NURSTEN, H. E. **Capillary electrophoresis for food analysis: Method development.** Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2000.

FREITAS, C. B. **Microchips eletroforéticos de vidro com detecção condutométrica sem contato para análise de ânions inorgânicos em amostras reais**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2 maio 2014.

FREITAS, C. B. et al. Monitoring of nitrite, nitrate, chloride and sulfate in environmental samples using electrophoresis microchips coupled with contactless conductivity detection. **Talanta**, v. 147, p. 335–341, jan. 2016.

GOŁĄB, M. et al. Development of CE-C4D Method for Determination Tropane Alkaloids. **Molecules**, v. 26, n. 19, p. 5749, 22 set. 2021.

GONZÁLEZ-GÓMEZ, L. et al. Green extraction approach based on µSPEed® followed by HPLC-MS/MS for the determination of atropine and scopolamine in tea and herbal tea infusions. **Food Chemistry**, v. 394, p. 133512, nov. 2022.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, A.; CASTAÑO-ÁLVAREZ, M.; FERNÁNDEZ ABEDUL, M. T. Single- and dual-channel hybrid PDMS/glass microchip electrophoresis device with amperometric detection. Em: **Laboratory Methods in Dynamic Electroanalysis**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 129–137.

GRYNKIEWICZ, G.; GADZIKOWSKA, M. Tropane alkaloids as medicinally useful natural products and their synthetic derivatives as new drugs. **Pharmacological reports : PR**, v. 60, n. 4, p. 439–63, 2008.

HALL, J. A.; MOORE, C. B. T. Drug facilitated sexual assault – A review. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 15, n. 5, p. 291–297, 1 jul. 2008.

HARRISON, D. J. et al. Micromachining a Miniaturized Capillary Electrophoresis-Based Chemical Analysis System on a Chip. **Science**, v. 261, n. 5123, p. 895–897, 13 ago. 1993.

HASSAN, S. Microchip Electrophoresis. **Encyclopedia**, v. 1, n. 1, p. 30–41, 23 dez. 2020.

HAUSER, P. C.; KUBÁŇ, P. Capacitively coupled contactless conductivity detection for analytical techniques – Developments from 2018 to 2020. **Journal of Chromatography A**, v. 1632, p. 461616, nov. 2020.

HEIGER, D. **High performance capillary electrophoresis - An introduction**. Germany: Agilent Technologies, 2000.

HURLEY, M.; PARKER, H.; WELLS, D. L. The epidemiology of drug facilitated sexual assault. **Journal of Clinical Forensic Medicine**, v. 13, n. 4, p. 181–185, maio 2006.

JORGENSON, J. W. Capillary electrophoresis: An introduction. **Methods**, v. 4, n. 3, p. 179–190, dez. 1992.

KOHNEN-JOHANNSEN, K.; KAYSER, O. Tropane alkaloids: chemistry, pharmacology, biosynthesis and production. **Molecules**, v. 24, n. 4, p. 796, 22 fev. 2019.

KUBÁŇ, P.; HAUSER, P. C. Contactless conductivity detection for analytical techniques: Developments from 2010 to 2012. **ELECTROPHORESIS**, v. 34, n. 1, p. 55–69, 3 jan. 2013.

KUBÁŇ, P.; HAUSER, P. C. Contactless conductivity detection for analytical techniques: Developments from 2016 to 2018. **ELECTROPHORESIS**, v. 40, n. 1, p. 124–139, jan. 2019.

KUMMER, S. et al. Abuse of the over-the-counter antispasmodic butylscopolamine for the home synthesis of psychoactive scopolamine. **European Journal of Pediatrics**, v. 175, n. 7, p. 1019–1021, 22 jul. 2016.

LACHER, N. A. et al. Microchip capillary electrophoresis/electrochemistry. **Electrophoresis**, v. 22, n. 12, p. 2526–36, ago. 2001.

LAKSTYGAL, A. M. et al. Dark Classics in Chemical Neuroscience: Atropine, Scopolamine, and Other Anticholinergic Deliriant Hallucinogens. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 10, n. 5, p. 2144–2159, 15 maio 2019.

LASZLO GYERMEK. **Pharmacology of Antimuscarinic Agents**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 1997.

LAUWERS, L. F. et al. Scopolamine intoxications. **Intensive Care Med**, v. 9, p. 283–285, 1983.

LE GARFF, E. et al. Forensic features of a fatal Datura poisoning case during a robbery. **Forensic Science International**, v. 261, p. e17–e21, abr. 2016.

LEBEAU, M. et al. Recommendations for Toxicological Investigations of Drug-Facilitated Sexual Assaults. **Journal of Forensic Sciences**, v. 44, n. 1, p. 227–230, 1999.

LEE, J. W. et al. Low-cost and facile fabrication of a paper-based capillary electrophoresis microdevice for pathogen detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 91, p. 388–392, maio 2017.

LI, H.-F.; CAI, Z.; LIN, J.-M. Separation of catecholamines by microchip electrophoresis with a simple integrated laser-induced fluorescence detector. **Analytica Chimica Acta**, v. 565, n. 2, p. 183–189, abr. 2006.

LOBO-JÚNIOR, E. O. et al. Simple, rapid and, cost-effective fabrication of PDMS electrophoresis microchips using poly(vinyl acetate) as photoresist master. **ELECTROPHORESIS**, v. 38, n. 2, p. 250–257, jan. 2017.

LOBO-JÚNIOR, E. O. et al. Inexpensive and nonconventional fabrication of microfluidic devices in PMMA based on a soft-embossing protocol. **ELECTROPHORESIS**, v. 41, n. 18–19, p. 1641–1650, 16 out. 2020.

LUSTHOF, K. J. et al. Toxicological results in a fatal and two non-fatal cases of scopolamine-facilitated robberies. **Forensic Science International**, v. 274, p. 79–82, maio 2017.

MANZ, A.; GRABER, N.; WIDMER, H. M. Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 1, n. 1–6, p. 244–248, jan. 1990.

MARRA, M. C. et al. Ultra-Fast Determination of Scopolamine, Orphenadrine, Mepyramine, Caffeine, Dipyrone, and Ascorbic Acid by Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 913–919, 2014.

MATEUS, L. et al. Capillary electrophoresis for the analysis of tropane alkaloids: pharmaceutical and phytochemical applications. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 18, n. 4–5, p. 815–825, dez. 1998.

MATHIES, R. A.; HUANG, X. C. Capillary array electrophoresis: an approach to high-speed, high-throughput DNA sequencing. **Nature**, v. 359, n. 6391, p. 167–169, set. 1992.

MELANSON, J. E.; LUCY, C. A. Ultra-rapid analysis of nitrate and nitrite by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 884, n. 1–2, p. 311–316, 7 jul. 2000.

MIRAKHUR, R. K. Comparative study of the effects of oral and im atropine and hyoscine in volunteers. **British Journal of Anaesthesia**, v. 50, n. 6, p. 591–598, jun. 1978.

MOFFAT, A. C. et al. **Clarke's analysis of drugs and poisons**. 4. ed. London: Pharmaceutical press, 2011.

MOREIRA, N. S. et al. Fabrication of microwell plates and microfluidic devices in polyester films using a cutting printer. **Analytica Chimica Acta**, v. 1119, p. 1–10, 4 jul. 2020.

MOREIRA, R. C. et al. High performance separation of quaternary amines using microchip non-aqueous electrophoresis coupled with contactless conductivity detection. **Journal of chromatography. A**, v. 1499, p. 190–195, 26 maio 2017.

MOREIRA, R. C. et al. Screening of seized cocaine samples using electrophoresis microchips with integrated contactless conductivity detection. **ELECTROPHORESIS**, v. 39, n. 17, p. 2188–2194, set. 2018.

MOSTAFA, G. A. E.-H. Potentiometric PVC membrane sensor for the determination of scopolamine in some pharmaceutical formulations. **Analytical Sciences**, v. 18, n. 12, p. 1335–1338, 26 dez. 2002.

MUTSCHLER, E. et al. **Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie**. 9. ed. Stuttgart: WVG, 2008.

NEGRUSZ, A.; GAENSSLEN, R. E. Analytical developments in toxicological investigation of drug-facilitated sexual assault. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 376, n. 8, p. 1192–1197, 1 ago. 2003.

NIELSEN, J. B. et al. Analysis of thrombin-antithrombin complex formation using microchip electrophoresis and mass spectrometry. **Electrophoresis**, v. 40, n. 21, p. 2853–2859, nov. 2019.

OU, X. et al. Microfluidic chip electrophoresis for biochemical analysis. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 1, p. 258–270, 12 jan. 2020.

PAPADOYANNIS, I. et al. Solid-phase extraction and RP-HPLC analysis of atropine sulphate and scopolamine-N-butylbromide in pharmaceutical preparations and biological fluids. **Instrumentation Science & Technology**, v. 22, n. 1, p. 83–103, fev. 1994.

PINHEIRO, K. M. P. **Análise de íons inorgânicos em resíduos de explosão utilizando microssistemas eletroforéticos**. Dissertação (Mestrado)— Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 1 ago. 2018.

PINHEIRO, K. M. P. et al. Rapid separation of post-blast explosive residues on glass electrophoresis microchips. **ELECTROPHORESIS**, v. 40, n. 3, p. 462–468, fev. 2019.

PINHEIRO, K. M. P. et al. Contactless conductivity detection on lab-on-a-chip devices: A simple, inexpensive, and powerful analytical tool for microfluidic applications. Em: **Handbook on Miniaturization in Analytical Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 155–183.

PINHEIRO, K.; REZENDE, K.; COLTRO, W. Métodos de injeção da amostra em microssistemas eletroforéticos. **Química Nova**, v. 44, p. 575–583, 2021.

POMEROY, A. R.; RAND, M. J. Anticholinergic effects and passage through the intestinal wall of *N* -butylhyoscine bromide. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 21, n. 3, p. 180–187, 12 abr. 2011.

PUTCHA, L. et al. Pharmacokinetics and Oral Bioavailability of Scopolamine in Normal Subjects. **Pharmaceutical Research**, v. 06, n. 6, p. 481–485, 1989.

REICHERT, S. et al. Million dollar ride: Crime committed during involuntary scopolamine intoxication. **Canadian family physician Medecin de famille canadien**, v. 63, n. 5, p. 369–370, maio 2017.

RENNER, U. D.; OERTEL, R.; KIRCH, W. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Clinical Use of Scopolamine. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 27, n. 5, p. 655–665, out. 2005.

REZENDE, K. C. A. et al. Authenticity screening of seized whiskey samples using electrophoresis microchips coupled with contactless conductivity detection. **Electrophoresis**, v. 37, n. 21, p. 2891–2895, 1 out. 2016.

RIBEIRO, M. M. A. C. et al. Simultaneous determination of scopolamine and butylscopolamine in pharmaceutical and beverage samples by capillary zone electrophoresis. **Microchemical Journal**, v. 172, p. 106985, 1 jan. 2022.

ROCKLIN, R. D.; RAMSEY, R. S.; RAMSEY, J. M. A Microfabricated Fluidic Device for Performing Two-Dimensional Liquid-Phase Separations. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 21, p. 5244–5249, 1 nov. 2000.

RUPREHT, J. Hyoscine derivative in children-but was it hyoscine? **Anaesthesia**, v. 46, n. 6, p. 514–514, jun. 1991.

SAHORE, V. et al. Pressure-actuated microfluidic devices for electrophoretic separation of pre-term birth biomarkers. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 2, p. 599–607, 4 jan. 2016.

SAITO, R. M.; COLTRO, W. K. T.; DE JESUS, D. P. Instrumentation design for hydrodynamic sample injection in microchip electrophoresis: A review. **ELECTROPHORESIS**, v. 33, n. 17, p. 2614–2623, set. 2012.

SÁIZ, J. et al. Rapid determination of scopolamine in evidence of recreational and predatory use. **Science and Justice**, v. 53, n. 4, p. 409–414, dez. 2013.

SANTOS, H. I. et al. Determination of scopolamine and butylscopolamine in beverages, urine and Buscopan® tablets samples using electrophoresis microchip with integrated contactless conductivity detection. **Talanta**, v. 266, p. 124960, jan. 2024.

SANTOS, S. B. et al. A simple square-wave voltammetric method for the determination of scopolamine in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode. **Química Nova**, v. 37, p. 1579–1583, 2014.

SEILER, KURT.; HARRISON, D. JED.; MANZ, A. Planar glass chips for capillary electrophoresis: repetitive sample injection, quantitation, and separation efficiency. **Analytical Chemistry**, v. 65, n. 10, p. 1481–1488, 15 maio 1993.

SHADPOUR, H. et al. Multichannel Microchip Electrophoresis Device Fabricated in Polycarbonate with an Integrated Contact Conductivity Sensor Array. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 870–878, 1 fev. 2007.

SHULTZ-LOCKYEAR, L. L. et al. Effects of injector geometry and sample matrix on injection and sample loading in integrated capillary electrophoresis devices. **Electrophoresis**, v. 20, n. 3, p. 529–38, mar. 1999.

SILVA, W. R. et al. A molecularly imprinted polymer-disposable pipette tip extraction-capillary electrophoresis (MISPE-DPX-CE) method for the preconcentration and determination of scopolamine in synthetic urine samples. **Chemosensors**, v. 10, n. 10, p. 387, 23 set. 2022.

SOCIETY OF FORENSIC TOXICOLOGISTS (SOFT). **Recommended Minimum Performance Limits for Common DFC Drugs and Metabolites in Urine Samples**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.soft-tox.org/assets/docs/SOFT_DFC_Cutoffs_2022.pdf>. Acesso em: 6 jul. 2023.

SPUDEIT, D. A.; DOLZAN, M. D.; MICKE, G. A. Eletroforese Capilar: uma breve introdução. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 4, p. 287–297, 2012.

STRANO-ROSSI, S. et al. Scopolamine fatal outcome in an inmate after buscopan® smoking. **International Journal of Legal Medicine**, v. 135, n. 4, p. 1455–1460, 23 jul. 2021.

TAVARES, M. F. M. Eletroforese capilar: conceitos básicos. **Química Nova**, v. 19, n. 2, p. 173–181, 1996.

TAVARES, M. F. M. Mecanismos de separação em eletroforese capilar. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 493–511, 1997.

THAKKAR, M. K.; LASSER, R. P. Scopolamine intoxication from nonprescription sleeping pill. **New York state journal of medicine**, v. 72, n. 6, p. 725–726, 15 mar. 1972.

TŮMA, P. Monitoring of biologically active substances in clinical samples by capillary and microchip electrophoresis with contactless conductivity detection: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1225, p. 340161, set. 2022.

TYL, C.; SADLER, G. D. pH and Titratable Acidity. **Food Analysis**, p. 389–406, 2017.

TYTGAT, G. N. Hyoscine Butylbromide. **Drugs**, v. 67, n. 9, p. 1343–1357, 2007.

URIBE, M. et al. Perfil epidemiológico de la intoxicación con burundanga en la clínica Uribe Cualla S. A. de Bogotá, D. C. **Acta Neurol Colomb**, v. 21, n. 3, p. 197–201, 2005.

VAN SASSENBROECK, D. K. et al. Three cases of substitution errors leading to hyoscine hydrobromide overdose. **Clinical Toxicology**, v. 43, n. 7, p. 861–865, 19 jan. 2005.

VANDAVEER, W. R. et al. Recent developments in electrochemical detection for microchip capillary electrophoresis. **ELECTROPHORESIS**, v. 25, n. 21–22, p. 3528–3549, nov. 2004.

VAPAATALO, H.; PENTTILÄ, A.; KALTIALA, E. The absorption and elimination of orally administered (14C) hyoscine N-butylbromide (butylscopolamine). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 27, n. 7, p. 542–543, 12 abr. 2011.

WANG, Y. et al. A high-performance polycarbonate electrophoresis microchip with integrated three-electrode system for end-channel amperometric detection. **ELECTROPHORESIS**, v. 29, n. 9, p. 1881–1888, maio 2008.

WEDIG, M.; HOLZGRABE, U. Enantioseparation of tropa alkaloids by means of anionic cyclodextrin-modified capillary electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 20, n. 7, p. 1555–60, jun. 1999.

WICK, H. Enteral absorption of hyoscine N-butylbromide. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 19, n. 11, p. 779–779, 12 abr. 2011.

WOOLLEY, A. T. et al. Capillary Electrophoresis Chips with Integrated Electrochemical Detection. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 4, p. 684–688, 1 fev. 1998.

WUETHRICH, A.; QUIRINO, J. P. A decade of microchip electrophoresis for clinical diagnostics – a review of 2008–2017. **Analytica Chimica Acta**, v. 1045, p. 42–66, jan. 2019.

YANG, M. et al. Simulation and experimental research of the cross-shape-effects on the performance of ion measurement by microchip electrophoresis. **Measurement Science and Technology**, v. 29, n. 12, p. 125103, 1 dez. 2018.

YUAN, B. et al. Simultaneous determination of atropine, anisodamine, and scopolamine in plant extract by nonaqueous capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence and electrochemistry dual detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 1, p. 171–174, jan. 2010.

CURRICULUM VITAE

CURRICULUM VITAE

1. Informações Pessoais

Nome Completo: Hellen Inácia dos Santos

Endereço Eletrônico: hellendossantos16@gmail.com

Naturalidade: Anápolis – GO **Data de Nascimento:** 22/04/2000

Filiação: Vandélia Francisca dos Santos e Glaydson Inácio dos Santos

2. Formação Acadêmica

Licenciada em Química

Universidade Estadual de Goiás (UEG)

Anápolis – Goiás

2017 – 2020

3. Atividades

3.1. Trabalhos apresentados em reuniões científicas

SANTOS, H. I.; PINHEIRO, K. M. P.; RICHTER, E. M.; COLTRO, W. K. T. Análise de “boa noite cinderela” usando microssistemas eletroforéticos. XVII Semana da Química e IV WorkShop da Pós Graduação, 2023, Goiânia/GO, Brasil.

SANTOS, H. I.; PINHEIRO, K. M. P.; RICHTER, E. M.; COLTRO, W. K. T. Electrophoresis microchips for scopolamine and butylscopolamine analysis. 20° Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA) e 8° - Congresso Ibero-Americano de Química (CIAQA), 2022, Bento Gonçalves/RS, Brasil.

SANTOS, H. I.; PINHEIRO, K. M. P.; RICHTER, E. M.; COLTRO, W. K. T. Microchips eletroforéticos para análise da escopolamina e butilescopolamina. III Reunião Bienal da Sociedade Brasileira de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2022, Bento Gonçalves/RS, Brasil.

SANTOS, H. I.; SILVA, A. C. H.; LACERDA, N. O. S.; CARVALHO, J. C. Q.; RAMOS, R. D. P. Análise das pesquisas sobre a temática metais e as relações ciência-tecnologia- sociedade-ambiente. XIII Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências, 2021, Caldas Novas/GO, Brasil.

SILVA, A. C. H.; **SANTOS, H. I**.; LACERDA, N. O. S.; CARVALHO, J. C. Q.; RAMOS, R. D. P. A temática “nanotecnologia”, como abordagem teórico-metodológica no ensino de química. XIII Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências, 2021, Caldas Novas/GO, Brasil.

SANTOS, H. I.; LACERDA, N. O. S.; GONCALVES, S. H.; FERREIRA, M. S. Plásticos e o ambiente: um projeto desenvolvido pelo Pibid química a partir das relações CTSA. II Congresso Nacional de Ensino de Ciências e Formação de Professores, 2019, Catalão/GO, Brasil.

3.2. Prêmios

Certificado de honra ao mérito na XVII Semana da Química e IV WorkShop da Pós Graduação promovida pelo Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO, 2023.

3.3. Artigo publicado

SANTOS, H. I.; PINHEIRO, K. M. P.; RICHTER, E. M.; COLTRO, W. K. T. Determination of scopolamine and butylscopolamine in beverages, urine and Buscopan® tablets samples using electrophoresis microchip with integrated contactless conductivity detection. ***Talanta***, 2024.