

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Exatas

Departamento de Química

Programa de Pós-graduação em Química

Wellington Alves de Barros

**ESTUDO VOLTAMÉTRICO E DETERMINAÇÃO DAS NOVAS SUBSTÂNCIAS
PSICOATIVAS 25X-NBOH EM AMOSTRAS DE URINA SINTÉTICA E PAPEL
MATA-BORRÃO UTILIZANDO ELETRODO COMPÓSITO**

Belo Horizonte

2024

UFMG/ICEX/DQ. 1.613
T. 737

Wellington Alves de Barros

**ESTUDO VOLTAMÉTRICO E DETERMINAÇÃO DAS NOVAS SUBSTÂNCIAS
PSICOATIVAS 25X-NBOH EM AMOSTRAS DE URINA SINTÉTICA E PAPEL
MATA-BORRÃO UTILIZANDO ELETRODO COMPÓSITO**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências - Química.

Orientador: Prof. Dr. Ângelo de Fátima

Belo Horizonte

2024

Ficha Catalográfica

B277e
2024
T

Barros, Wellington Alves de.
Estudo voltamétrico e determinação das novas substâncias psicoativas 25X-NBOH em amostras de urina sintética e papel mata-borrão utilizando eletrodo composto [manuscrito] / Wellington Alves de Barros. 2024.
96 f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Ângelo de Fátima.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química.
Bibliografia: f. 82-91.
Apêndices: f. 92-96.

1. Química analítica – Teses. 2. Fenetilamina – Teses. 3. Voltametria – Teses. 4. Psicotrópicos – Teses. 5. Eletrodo de carbono – Teses. 6. Eletroquímica – Teses. I. Fátima, Ângelo de, Orientador. II. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



"Estudo Voltamétrico e Determinação das Novas Substâncias Psicoativas 25X-NBOH em Amostras de Urina Sintética e Papel Mata-borrão Utilizando Eletrodo Compósito"

Wellington Alves de Barros

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Ângelo de Fátima - Orientador
UFMG

Profa. Michelle Fernanda Brugnera
UFMT

Prof. Sherlan Guimarães Lemos
UFPB

Profa. Clésia Cristina Nascentes
UFMG

Prof. Tulio Matencio
UFMG

Belo Horizonte, 19 de junho de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Tulio Matencio, Membro**, em 19/06/2024, às 18:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Angelo de Fatima, Professor do Magistério Superior**, em 19/06/2024, às 18:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Clesia Cristina Nascentes, Professora do Magistério Superior**, em 19/06/2024, às 22:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Michelle Fernanda Brugnera, Usuário Externo**, em 20/06/2024, às 09:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sherlan Guimarães Lemos, Usuário Externo**, em 26/06/2024, às 11:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3309430** e o código CRC **769F055E**.

Dedico essa tese aos meus pais, pelo
apoio incondicional ao longo de toda
minha jornada.

AGRADECIMENTOS

À minha família, principalmente meus pais, que nunca mediram esforços para que eu tivesse as oportunidades que me fizeram chegar a realizar essa tese.

Ao professor Ângelo pela orientação na minha formação, orientação que iniciou com o mestrado e que continuou até o final do doutorado, mesmo boa parte dela a distância. Por ter concordado que eu me mudasse para Cuiabá no meio do doutorado para assumir concurso, em um momento que estava cogitando desistir. Como ele me disse quando anunciei que pretendia mudar para Cuiabá: “A dureza da vida adulta é que precisamos tomar decisões e lidar com as consequências de nossas escolhas”. Hoje vejo que tomei a decisão correta naquela época.

À professora Marilza por possibilitar que essa tese fosse iniciada e concluída. Por me receber em seu grupo de pesquisa mesmo eu não tendo nenhuma experiência com eletroquímica.

À Anabel por toda ajuda que forneceu desde o início desse projeto. Costumo dizer que Anabel foi um anjo que apareceu em minha vida num momento que estava perdido, sem saber literalmente o que fazer do ponto de vista da pesquisa, como montar uma célula eletroquímica. Agradeço pelas intermináveis horas ao lado do potenciostato, por dizer que as coisas não davam certo porque eu estava fazendo de má vontade e fazer eu continuar as medidas quando já estava querendo desistir. Agradeço ainda mais à amizade que cultivamos nesse período, os bons momentos que passamos, as aventuras por MT, aos planos de contenção de gastos (falho até hoje).

À Adriene pela amizade desenvolvida no laboratório (os de verdade), vizinhos de mesa na sala de estudo, compartilhando os desesperos de escrever uma tese, sofrendo por antecedência com tudo, pelas caronas, por tudo.

Aos meus amigos de laboratório Mateus, Ana Carolina e Crislaurio pela ajuda durante esse processo, mas ainda mais pela companhia, os momentos de descontração que são essenciais para não enlouquecermos durante um doutorado.

Aos demais membros do GENMAT que me ajudaram direta e indiretamente.

Aos amigos e colegas que fiz no GEQOB: Yuri, Juliana, João Victor, Talita, Angélica, Breno, Natalia, Cláudia, Carlos Henrique, Taniris que mesmo a distância, continuaram me apoiando e ajudando com o que fosse necessário.

Aos Profs. Dr. Tulio Matencio, Dra. Clésia Cristina Nascentes, Dra. Mariana Ramos de Almeida, Dr. Sherlan Guimarães Lemos, Dra. Michelle Fernanda Brugnera e Dr. Willame Farias Ribeiro por aceitarem contribuir para esta tese como banca avaliadora.

Aos programas de pós-graduação em química da UFMG e UFMT pela oportunidade do mestrado.

Aos órgãos de fomento FAPEMIG, FAPEMAT, CNPq e CAPES pelo financiamento.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

RESUMO

O aumento significativo de novas drogas sintéticas nos últimos anos levou à exploração de técnicas inovadoras de identificação e quantificação destas substâncias. Entre estas novas drogas estão as fenetilaminas substituídas conhecidas como NBOHs e NBOMes. Neste trabalho um estudo do mecanismo da oxidação eletroquímica, bem como a quantificação das novas substâncias psicoativas 25H-NBOH e 25B-NBOH em urina sintética e em selos sintéticos, foram realizados pela primeira vez, empregando técnicas voltamétricas, com eletrodo composto (EC) a base de grafite e policaprolactona (PCL). As duas drogas apresentam comportamento similar sobre o EC em tampão BR 0,1 molL⁻¹ pH 4,0, e a partir dos resultados de voltametria cíclica foi proposto um mecanismo de oxidação para as duas drogas. Para o método de detecção, foram otimizados os parâmetros da voltametria de pulso diferencial, adotando o tampão BR em pH 8,0, e obtidas curvas analíticas na faixa de 100 a 800 ng mL⁻¹ para 25H-NBOH e 100 a 700 ng mL⁻¹ para 25B-NBOH ($r^2 = 0,999$ para ambas as curvas), com limites de detecção de 19 ng mL⁻¹ e 23 ng mL⁻¹, respectivamente, e limites de quantificação de 64 ng mL⁻¹ e 76 ng mL⁻¹ para 25H-NBOH e 25B-NBOH. O método proposto foi utilizado para quantificação das drogas em urina sintética e em papéis absorventes, com valores de recuperação variando entre 95% e 106%, indicando exatidão do método.

Palavras-chave: fenetilamina; voltametria; validação analítica; eletrodo composto; drogas ilícitas.

ABSTRACT

The significant increase in the proliferation of new synthetic drugs in recent years has prompted the exploration of innovative techniques for identifying and quantifying these substances. Particularly noteworthy among these new drugs are the substituted phenethylamines known as NBOHs and NBOMes. This study presents the electrochemical investigation and quantification of the new psychoactive substances 25H-NBOH and 25B-NBOH in synthetic urine and synthetic blotting papers using differential pulse voltammetry with a composite electrode composed of graphite and polycaprolactone (PCL). and based on the results of cyclic voltammetry, an oxidation mechanism for the two drugs was proposed. Under optimized experimental conditions for differential pulse voltammetry studies, analytical curves were generated in the range of 100 to 800 ng mL⁻¹ for 25H-NBOH and 100 to 700 ng mL⁻¹ for 25B-NBOH ($r^2 = 0.999$), with detection limits of 19 ng mL⁻¹ and 23 ng mL⁻¹, respectively, and quantification limits of 64 ng mL⁻¹ and 76 ng mL⁻¹ for 25H-NBOH and 25B-NBOH. The proposed method was utilized for quantifying the drugs in synthetic urine and synthetic blotting papers, with recovery values ranging between 95% and 106%, indicating the accuracy of the method.

Keywords: phenethylamine; voltammetry; analytical validation; composite electrode; illicit drugs.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura geral da fenetilamina e fenetilaminas substituídas.	23
Figura 2. Processo de uma reação eletroquímica	26
Figura 3. Representação de uma célula eletroquímica.	28
Figura 4. (A) Sinal de excitação para a VC, (B) Voltamograma cíclico resultante.	30
Figura 5. Formas de aplicação de potencial em relação ao tempo e momento da medida de corrente para as técnicas de A) voltametria de pulso normal, B) voltametria de escada, C) voltametria de pulso diferencial e D) voltamograma resultante. • Medida da corrente.	32
Figura 6. Aplicação de potencial da VOQ: soma da (A) onda quadrada e (B) rampa escalonada em degraus. C) Perfil da VOQ e (D) voltamograma da VOQ.	33
Figura 7. Estrutura cristalina do grafite.	37
Figura 8. Diferentes rotas para síntese da PCL	39
Figura 9. Eletrodo compósito baseado em grafite:PCL (7:3).....	47
Figura 10. Voltamogramas cíclicos para 5,0mmolL ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ^{-4/3-} em solução 0,5 mol L ⁻¹ KCl para EC. (A) Velocidades: 10, 25, 50, 75, 100, 150 e 200 mV s ⁻¹ . (B) Gráficos de I _p vs v ^{1/2} para: corrente de pico anódica (■) e catódica (●).	53
Figura 11. Voltamogramas cíclicos no eletrodo compósito em soluções tampão Britton-Robinson (pH 4,0) e após adição de 25 µg mL ⁻¹ de (A) 25X-NBOH (X = H, Br e I), e (B) 25X-NBOMe (X = H, Br e I). Velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹	54
Figura 12. Comparação da resposta das drogas 25H-NBOH e 25B-NBOH 25 µg mL ⁻¹ utilizando os EC e ECV em tampão Britton-Robinson (pH 4,0).	55
Figura 13. Voltamogramas cíclicos utilizando o eletrodo compósito em soluções tampão BR (pH 4,0) e após adição de 25 µg mL ⁻¹ de (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH. v = 50 mV s ⁻¹	56
Figura 14. Voltamogramas cíclicos e partes de voltamogramas cíclicos de (A) 25H-NBOH 25 µg mL ⁻¹ e (B) 25B-NBOH 25 µg mL ⁻¹ em tampão BR pH 4,0. Velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹	57

Figura 15. Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura para (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em tampão BR pH 4. Inserções: gráficos de $\log I_p$ vs $\log v^{1/2}$	60
Figura 16. Voltamogramas VPD em vários níveis de pH de uma solução contendo 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH (Inserções: dependência do potencial de pico e corrente de pico dependência com o pH) em tampão BR.	61
Figura 17. Voltamogramas de pulso diferencial variando os principais parâmetros da técnica de VPD. (A,D) – amplitude de pulso com $I_P = 0,01$ V e $T_M = 0,05$ s; (B,E;) – incremento de potencial com $\Delta E = 0,07$ V e $T_M = 0,05$ s; (C,F) – tempo de modulação com $\Delta E = 0,07$ V e $I_P = 0,01$ V s. Tampão BR 0,1 mol L^{-1} , pH 8.....	64
Figura 18. Voltamogramas VPD para (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 8. Parâmetros DPV: I_P 0,01 V, ΔE 0,07 V, T_M 0,05 s.....	66
Figura 19. Voltamogramas de pulso diferencial para (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 8 obtidos após diferentes tempos de agitação em potencial de circuito aberto. Parâmetros DPV: I_P 0,01 V, ΔE 0,07 V, T_M 0,05 s.....	67
Figura 20. Voltamogramas VPD (linha de base corrigida) para (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH. (C) Concentrações versus correntes de pico obtidas do VPD. Tempo de pré-concentração de 180 s para 25H-NBOH e 300 s para 25B-NBOH.....	68
Figura 21. Curvas analíticas de adição de padrão para determinação de (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH em urina sintética.	72
Figura 22. Metabólitos majoritários identificados para 25H-NBOH e 25B-NBOH.....	76
Figura 23. A) Selos preparados em papel mata-borrão e B) extração do selo com 1 mL de DMSO.....	77
Figura 24. Curvas de adição de padrão para quantificação de (A,B) selos contendo 25 e 100 μg de 25H-NBOH, respectivamente. (C,D) Selos contendo 25 e 100 μg de 25B-NBOH, respectivamente.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração quantificada em diferentes fluidos biológicos para diversas fenetilaminas substituídas.	24
Tabela 2. Especificações dos reagentes utilizados.	44
Tabela 3. Parâmetros da VPD avaliados e escolhidos para otimização do método. .	68
Tabela 4. Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de 25H-NBOH e 25B-NBOH usando a VPD.	69
Tabela 5. Parâmetros de repetibilidade e precisão intermediária para o método VPD.	70
Tabela 6. Valores determinados de 25H-NBOH e 25B-NBOH em urina sintética e valores de recuperação.	73
Tabela 7. Concentrações determinadas em urina para outras drogas da classe NBOH e NBOMe.	74
Tabela 8. Valores de recuperação obtidos pelo método em selos fortificados.	79

SIGLAS, ABREVIATURAS, ACRÔNIMOS E SÍMBOLOS

%DPR	Desvio padrão relativo
ΔE	Amplitude de pulso
4-MEC	(\pm)-4'-Metil- <i>N</i> -etilcatinona
4-MC	Metilcatinona
4-MMC	(\pm)-4'-Metilmetcatinona
4-MMC-R	Diidromefedrona
A	Ampere
A	Área
AAS	Ácido acetilsalicílico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BR	Britton-Robinson
BZP	1-Benzilpiperazina
CE	Contra eletrodo
CG	Cromatografia a gás
CNTs	Nanotubos de carbono
COH	Culturas organotípicas do hipocampo
D	Coefficiente de difusão
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMT	2-(1 <i>H</i> -Indol-3-il)- <i>N,N</i> -dimetiletanamina
DMT	2-(1 <i>H</i> -Indol-3-il)- <i>N,N</i> -dimetiletanamina
DPR	Desvio Padrão Relativo
E	Potencial
EC	Eletrodo compósito
ECV	Eletrodo de carbono vítreo
EDDB	Eletrodo de diamante dopado com boro
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
ER	Eletrodo de referência
ET	Eletrodo de trabalho
f	Frequência
HSA	Albumina do soro humano

I ou I _p	Corrente de pico
I _D	Corrente direta
I _{pa}	Corrente de pico anódica
I _{pc}	Corrente de pico catódica
I _R	Corrente reversa
IP	Incremento de potencial
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LSD	Dietilamina do ácido lisérgico
mCPP	1-(3-Clorofenil)-piperazina
MDMA	3,4-Metilenodioximetanfetamina
MDPV	3,4-Metilenodioxipirovalerona
MeOH	Metanol
mMeOPP	1-(3-Metoxifenil)piperazina
<i>n</i>	Número de elétrons
NPS	<i>New Psychoactive Substance</i>
pBPP	1-(4-Bromofenil)piperazina
PCL	Policaprolactona
pCPP	1-(4-Clorofenil)piperazina
PiHKAI	Phenethylamines I Have Known And Loved – Fenetilaminas que Conheci e Amei
pMeOPP	1-(4-Metoxifenil)piperazina
pNOPP	1-(4-Nitrofenil)piperazina
pOHPP	1-(4-Hidroxifenil)piperazina
PPA	Polimerização por abertura de anel
SPES	<i>Screen-printed electrochemical sensors</i>
TM	Tempo de modulação
t _p	Largura de pulso
TPC	Tempo de pré-concentração
UNODC	Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime
v	Velocidade de varredura
VC	Voltametria cíclica
VOQ	Voltametria de onda quadrada

VPD	Voltametría de pulso diferencial
VPN	Voltametría de pulso normal
τ	Período

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	19
2.	OBJETIVO	21
2.1.	Objetivo geral	21
2.2.	Objetivos específicos	21
3.	REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1.	Fenetilaminas substituídas.....	22
3.2.	Técnicas voltamétricas.....	25
3.2.1.	Célula eletroquímica e eletrodos.....	27
3.2.2.	Voltametria cíclica.....	29
3.2.3.	Voltametria de pulso diferencial	31
3.2.4.	Voltametria de onda quadrada.....	32
3.3.	Eletrodos compósitos.....	34
3.3.1.	Fase condutora	36
3.3.2.	Fase isolante ou aglutinante	38
3.4.	Uso de técnicas voltamétricas para estudo e determinação de nova substâncias psicoativas (NPS).....	40
4.	PARTE EXPERIMENTAL	44
4.1.	Reagentes e soluções.....	44
4.2.	Instrumentação	45
4.3.	Fabricação dos eletrodos.....	46
4.3.1.	Eletrodo de referência.....	46
4.3.2.	Eletrodo de trabalho.....	47
4.4.	Procedimentos experimentais.....	47
4.4.1.	Caracterização voltamétrica dos ECs empregando uma solução de ferricianeto de potássio	47

4.4.2.	Estudos voltamétricos para as drogas	48
4.4.2.1.	Voltametria cíclica	48
4.4.2.2.	Voltametria de pulso diferencial	49
4.4.2.3.	Curvas analíticas para 25H-NBOH e 25B-NBOH.....	49
4.4.2.4.	Preparo das amostras de urina sintética	50
4.4.2.5.	Preparo dos selos sintéticos de 25H-NBOH e 25B-NBOH.....	50
4.4.2.6.	Estudo de adição e recuperação empregando adição de padrão para 25H-NBOH e 25B-NBOH em amostras de urina e selos sintéticos	50
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1.	Caracterização eletroquímica dos eletrodos compósitos	52
5.2.	Comportamento eletroquímica das 25X-NBOH e 25X-NBOMe	53
5.3.	Estudo do mecanismo de oxidação eletroquímica para 25H-NBOH e 25B-NBOH 55	
5.4.	Desenvolvimento do método voltamétrico	60
5.4.1.	Influência da velocidade de varredura	60
5.4.2.	Influência do pH do eletrólito de suporte no perfil voltamétrico das drogas 61	
5.4.3.	Otimização dos parâmetros da VPD.....	64
5.4.4.	Curvas analíticas para 25H-NBOH e 25B-NBOH	68
5.4.5.	Repetibilidade e precisão intermediária na análise de 25H-NBOH e 25B-NBOH	70
5.5.	Aplicação do método analítico para determinação de 25H-NBOH e 25B-NBOH 72	
5.5.1.	Quantificação de 25H-NBOH e 25B-NBOH em urina sintética	72
5.5.2.	Quantificação de 25H-NBOH e 25B-NBOH em selos sintéticos	76
6.	CONCLUSÃO	80
	REFERÊNCIAS	82

APÊNDICE A - Artigo com resultados da tese	92
APÊNDICE B - Artigos publicados na temática da tese ou em colaboração.....	93

1. INTRODUÇÃO

O último relatório bianual do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC – do inglês *United Nations Office on Drugs and Crime*) revelou que o número de novas substâncias psicoativas (NPS) voltou a crescer, após anos de estabilização. Apenas em 2021, 618 NPS foram reportadas globalmente. Estima-se que o número de NPS identificadas nos últimos 15 anos chegou a 1165 substâncias até 2021, e que em 2022 este número pode ter chegado a 1184.[1] Apesar do uso das NPS ainda ser pequeno comparado com outras drogas mais tradicionais, seu uso pode ser alto em grupos específicos de população.

Entre essas NPS encontram-se as fenetilaminas substituídas (popularmente conhecidas como NBOMes e NBOHs), classe de substâncias agonistas dos receptores de serotonina 5HT, que atualmente tem seu uso como droga de uso recreativo devido seus efeitos alucinógenos.[2] Diversas substâncias dessa classe são de uso proscrito no Brasil, e nos últimos anos diversas notícias na mídia evidenciam a presença dessas substâncias no mercado brasileiro. Um dos casos de repercussão foi a morte do estudante da Universidade de São Paulo em 2014 após uso da droga 25B-NBOMe.[3] Além disso, devido aos efeitos semelhantes ao LSD, é comum que essas substâncias sejam muitas vezes comercializadas como LSD.[4] Desta forma são necessários métodos para sua correta identificação trazendo celeridade à justiça.[5]

Atualmente os métodos comumente utilizados para detecção e quantificação das NBOMes e NBOHs baseiam-se em técnicas cromatográficas. Apesar de serem consideradas técnicas padrão ouro, as substâncias da classe NBOH apresentam problemas ao serem analisadas por cromatografia a gás (CG). Estas substâncias são termolábeis e acabam por sofrer degradação nas altas temperaturas da CG dando origem a uma substância precursora da síntese. Apesar dessa nova substância também ser uma droga ilícita, o uso de CG para determinação de NBOHs pode levar a identificação incorreta.[6]

Diante aos desafios enfrentados com os métodos utilizados para análise dessas substâncias, há uma necessidade de desenvolver métodos analíticos rápidos,

acessíveis e de fácil implementação, que demandem preparação mínima da amostra, como os métodos eletroquímicos. As técnicas eletroquímicas oferecem uma série de vantagens para a análise de NPS, tais como simplicidade, rapidez e custo relativamente baixo. Tais métodos envolvem a medição de sinais elétricos gerados pelas reações redox dos analitos na superfície do eletrodo, permitindo obter informações quantitativas sobre a presença e concentração de um analito em uma amostra.[7–10]

Além do uso de diferentes técnicas eletroquímicas, é possível estudar uso de diferentes eletrodos de trabalho, a fim de usar o que se mostra mais vantajoso para o analito em questão. Entre os eletrodos de trabalho, os eletrodos compósitos oferecem vantagens em relação aos eletrodos convencionais, como melhor relação sinal-ruído, flexibilidade de fabricação para variar seu tamanho e formato, permitindo uma ampla gama de configurações e a capacidade de incorporar modificadores como mediadores de elétrons. [9,10]

Diante das considerações apresentadas, o presente trabalho confeccionou eletrodos compósitos à base de grafite/policaprolactona (PCL) para estudo das fenetilaminas substituídas 25H-NBOH e 25B-NBOH. Voltametria cíclica (VC) foi utilizada para estudo do perfil eletroquímico das drogas, bem como para proposição de um mecanismo de oxidação. Um método voltamétrico utilizando voltametria de pulso diferencial (VPD) foi validado e aplicado para quantificação de 25H-NBOH e 25B-NBOH nas matrizes de urina sintética e selos sintéticos.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral

Esse trabalho se propõe a desenvolver um novo método eletroquímico com uso de eletrodo compósito para determinação das drogas 25H-NBOH e 25B-NBOH.

2.2. Objetivos específicos

- Confeccionar os eletrodos compósitos (EC) de carbono e policaprolactona, e caracterizá-los por voltametria cíclica utilizando o $K_3[Fe(CN)_6]$;
- Investigar do comportamento voltamétrico das drogas 25X-NBOH e 25X-NBOMe sobre o EC;
- Investigar e propor mecanismos redox das drogas 25H-NBOH e 25B-NBOH;
- Desenvolver um método voltamétrico para determinação das drogas 25H-NBOH e 25B-NBOH;
- Otimizar a resposta do EC para as drogas, avaliando o efeito do pH;
- Otimizar os parâmetros da VPD (tempo de condicionamento, amplitude de pulso, tempo de pulso e incremento de varredura);
- Avaliar a repetibilidade, precisão e exatidão do método;
- Aplicar o método para determinação das drogas 25H-NBOH e 25B-NBOH em urina sintética e selos sintéticos;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Fenetilaminas substituídas

As NPS podem ser definidas como substâncias de abuso que não são controladas pela Convenção Única sobre Entorpecentes de 1961 ou pela Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas de 1971, mas que podem representar uma ameaça à saúde pública. Desta forma, o termo “novo” não se refere necessariamente a novas invenções, mas a substâncias recentemente disponibilizadas.[1]

As NPS podem ser classificadas como catinonas sintéticas, canabinoides, sintéticos, piperazinas, triptaminas e fenetilaminas, sendo esta última classe o objeto de estudo deste trabalho.[11]

Neste contexto, parte das fenetilaminas substituídas ainda são consideradas NPS, pois apenas as substâncias 25B-NBOMe, 25C-NBOMe e 25I-NBOMe encontram-se na Lista Verde da Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas de 1971, sendo a Lista de Substâncias Psicotrópicas sobre controle internacional.[12]

As pesquisas com fenetilaminas iniciaram-se em 1991 pelo casal Ann Shulgin e Alexander Shulgin com a publicação do livro *PIHKAI – A Chemical Love Story* (acrônimo para *Phenethylamines I Have Known And Loved* – fenetilaminas que conheci e amei) onde relatam a síntese de 179 substâncias diferentes, além de descrição dos efeitos de sua autoadministração.[13]

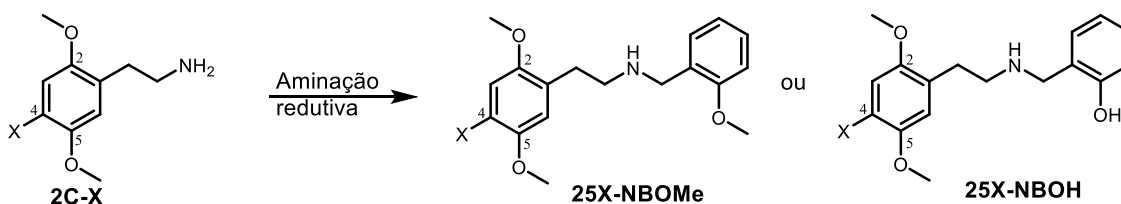
As fenetilaminas são classicamente denominadas de 2C-X devido a presença de dois átomos de carbono entre o anel aromático e o grupo amino, sendo que R indica substituintes no anel, normalmente na posição 4 (Figura 1).

Estas substâncias são agonistas dos receptores de serotonina o que faz com que possuem atividade alucinógena. Essa característica agonista levou ao interesse por síntese de novos análogos que pudessem ser utilizados como marcadores para exames de imagem, assim surgiram as fenetilaminas substituídas. As primeiras fenetilaminas substituídas foram sintetizadas em 2003 por Half Hein em sua tese,

onde foi demonstrado que essas substâncias também são agonistas dos receptores 5-HT, apresentando maior afinidade pela família de receptores 5-HT_{2A}. [2]

São denominadas substituídas pois sua síntese é realizada pela inserção de um grupo benzil à amina por uma reação de aminação reductiva entre substâncias 2C e aldeídos. Duas classes principais de fenetilaminas substituídas são encontradas na literatura e no mercado ilícito, as 25X-NBOMes e 25X-NBOHs. Onde R indica a ramificação ou átomo ligado à posição 4 do anel aromático e a numeração 25 indica a presença de dois grupos metoxilas nas posições 2 e 5 da fenetilamina. Já os sufixos OMe e OH indicam a presença de uma metoxila (OMe) ou hidroxila (OH) no grupo benzil, respectivamente (Figura 1). [14]

Figura 1. Estrutura geral da fenetilamina e fenetilaminas substituídas.



Foi demonstrado que a presença do grupo 2-metoxibenzil nas 25X-NBOMe aumenta em até 26 vezes a afinidade com os receptores 5-HT_{2A} e em até 14 vezes para os 5-HT_{2C} em comparação com 2C-X, e afinidade até 8,4 vezes maior para estes receptores quando comparado com a dietilamida do ácido lisérgico (LSD). [15]

Como pode ser observado, o mecanismo de ação das 25X-NBOMe e 25X-NBOH é semelhante ao do LSD, logo apresentam efeitos semelhantes. Isso fez com que essas fenetilaminas fossem comercializadas a partir de 2010 como um substituto “legal” para o LSD (muitas vezes vendidas como LSD), uma vez que ainda não existiam legislações proibindo essas drogas. [6] No Brasil diversas fenetilaminas são listadas como de uso proscrito pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na lista F1 da Portaria SVS/MS N.º 344 de 12 de maio de 1998, com atualização mais recente pela Resolução da Diretoria Colegiada nº 835 de 13 dezembro de 2023, sendo elas: 2C-X (X = Br, Cl, metil, Etil, F, I, etil-tio, propiltio), 25X-NBOH (X = Br, Cl, etil, H e I) e 25X-NBOMe (X = Br, Cl, metil, etil, H, I, nitro, propil, tioetil, tiopropil). [5]

Entre as formas de comercialização destas drogas destacam-se os selos, podendo ser encontrada ainda na forma de pó ou comprimidos. Além dos efeitos

alucinógenos, são relatados casos de taquicardia, hipertensão, dor e palpitação no peito, agitação, agressividade, psicoses.[16–18] Sendo que alguns desses efeitos podem ser responsáveis pelos casos fatais após uso de fenetilaminas. Diversos casos de morte após ingestão de 25I-NBOMe, 25C-NBOMe e 25B-NBOMe, são relatados e confirmados a partir da detecção da droga em fluidos biológicos, conforme tabela abaixo:

Tabela 1. Concentração quantificada em diferentes fluidos biológicos para diversas fenetilaminas substituídas.

Droga	Fluido	Concentração	Ref
25C-NBOMe	Sangue	1,43 – 2,80 ng/mL; 0,60 µg/kg	[19,20]
	Urina	0,94 ng/mL	[19]
	Humor vítreo	0,33 µg/kg	[20]
25H-NBOMe	Sangue	0,13 – 0,29 ng/mL	[19]
	Urina	0,14 ng/mL	[19]
25I-NBOMe	Sangue	0,405; 19,8; 0,76 ng/mL	[21–23]
	Urina	2,86 ng/mL	[21]
	Humor vítreo	0,99 pg/mL	[21]
	Urina	28 ng/mL	[24]
25B-NBOMe	Sangue	1,59 ng/mL	[22]

Vale ressaltar que esses métodos utilizados para obtenção dos resultados expressos na Tabela 1 baseiam-se em técnicas cromatográficas, não sendo encontrados muitos trabalhos na literatura que utilizam técnicas voltamétricas para determinação de fenetilaminas. Estes trabalhos serão apresentados adiante.

Estudos recentes indicam possível toxicidade para as fenetilaminas. Exposição de embriões e larvas de *zebrafish* à 25H-NBOH e 25H-NBOMe por 96h causou alta mortalidade, além de efeitos não letais como má formação vertebral, atraso no nascimento, má formação corporal, edema pericárdico e coagulação sanguínea. No mesmo trabalho os autores demonstraram que as drogas possuem afinidade *in vitro* com DNA e que essa interação leva a mudanças conformacionais em sua

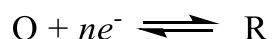
estrutura.[25] Estudo semelhante demonstrou que 25I-NBOH e 25I-NBOMe interagem com albumina do soro humano (HSA) podendo se ligar à ambos os sítios de interação da proteína, sendo uma possível rota de transporte dessas drogas no corpo humano.[26]

Cassiano *et al.* (2023) demonstraram efeito neurotóxico de 25H-NBOH e 25H-NBOMe em culturas organotípicas do hipocampo (COH). Foi observada redução na densidade de neurônios maduros nas COH após sete e dois dias de exposição para 25H-NBOH e 25H-NBOMe. 25H-NBOH mostrou-se mais tóxica, causando perda progressiva de neurônios mesmo após remoção do meio de cultura.[27]

3.2. Técnicas voltamétricas

A eletroquímica constitui uma vertente da química dedicada à análise da inter-relação entre os efeitos elétricos e químicos, sendo que boa parte desse campo está voltada para a investigação das alterações químicas provocadas pela passagem de corrente elétrica, bem como a geração de energia elétrica por meio de reações químicas.[28]

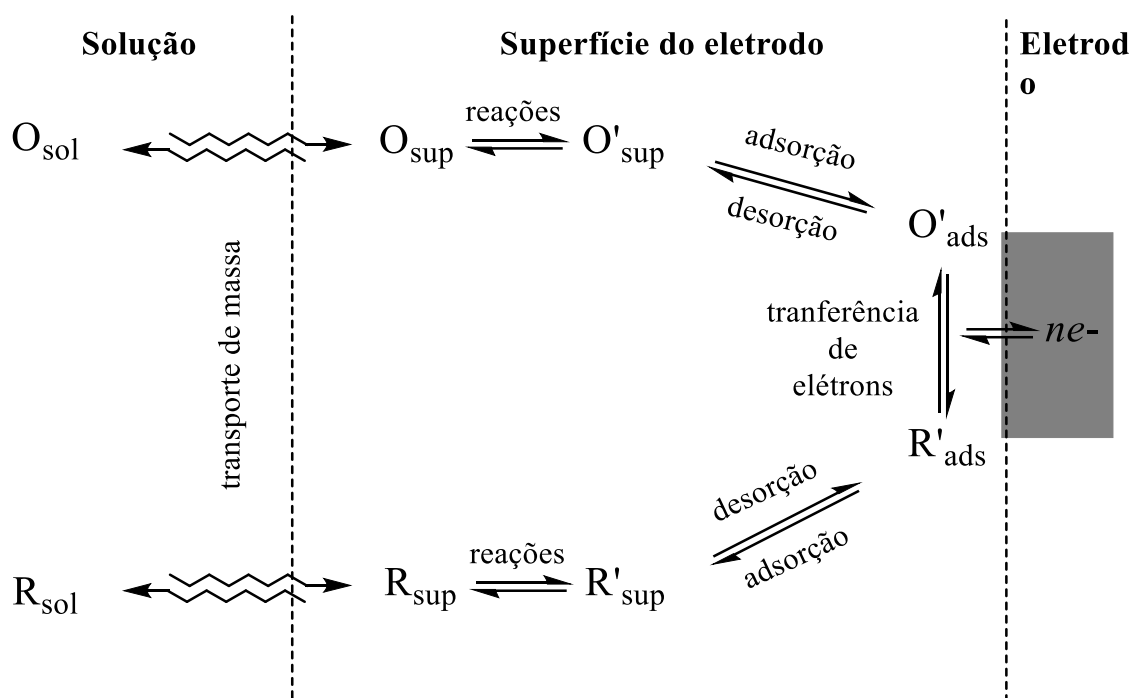
O princípio fundamental que governa a detecção eletroquímica é o movimento de elétrons entre um condutor elétrico e uma espécie analítica redox na superfície do eletrodo. A oxidação implica na perda de elétrons do orbital molecular mais ocupado, enquanto a redução envolve a injeção de elétrons no orbital molecular mais baixo não ocupado da espécie analítica.[29] Para um par arbitrário de compostos, em que **R** representa a forma reduzida e **O** representa a forma oxidada, a reação eletroquímica pode ser representada da seguinte maneira:



Para que ocorra a reação desejada no analito é necessário aplicar uma diferença potencial ao eletrodo, de forma que seja suficientemente positivo ou negativo para que ocorra a oxidação ou redução, respectivamente. Entretanto, uma série de processos podem influenciar para que as reações eletroquímicas ocorram,

como: transporte de massa do analito da solução para a superfície do eletrodo, reações na superfície do eletrodo como adsorção e reações paralelas que podem acontecer antes ou após as reações eletroquímicas, conforme ilustrado na Figura 2.

Figura 2. Processo de uma reação eletroquímica



Fonte: Adaptado de Venton e DiScenza (2020) [29]

Entre esses processos, um dos mais importantes é o transporte de massa do analito da solução para a superfície do eletrodo, uma vez que as reações eletroquímicas ocorrem na superfície, a quantidade de analito que chega ao eletrodo influencia nos resultados obtidos. Os mecanismos pelo qual o analito pode chegar à superfície do eletrodo são migração, difusão ou convecção.

Na migração as partículas carregadas (apenas íons) se movem na presença de um campo elétrico. Já na difusão, o movimento ocorre sem influência de nenhuma força física, sendo que as espécies tendem a mover de regiões mais concentradas da solução, para região menos concentrada, buscando maximizar sua entropia, assim como na migração, onde as partículas do soluto movem-se através do solvente estacionário. Diferente dos mecanismos anteriores, na convecção a solução como um todo é transportada, usualmente a partir de agitação da solução.[30]

Na superfície do eletrodo os analitos sofrerão reações redox que envolvem a transferência de elétrons do eletrodo para o analito e vice-versa, e como resultado desses processos, uma corrente elétrica é gerada.

Duas espécies distintas de correntes podem ser geradas ao ocorrer o processo redox na superfície do eletrodo. Um desses tipos envolve a transferência de elétrons através da interface entre o eletrodo e a solução. Desencadeando reações químicas de oxidação ou redução. Tais reações são regidas pela lei de Faraday, que estabelece a proporção entre a taxa de transferência de elétrons e a corrente. Desta forma, essa corrente é denominada corrente faradaica. O segundo tipo de corrente surge devido à presença da dupla camada elétrica na superfície do eletrodo e pode se manifestar devido à adsorção ou dessorção das espécies. Ao contrário do primeiro caso, não ocorre uma reação química e, portanto, os elétrons não são transferidos através da interface entre o eletrodo e a solução. Este segundo tipo de corrente é denominada corrente capacitiva ou não faradaica. Assim, a corrente total que flui é frequentemente a soma das contribuições faradaicas e não faradaicas.[30]

Diversas técnicas analíticas foram desenvolvidas utilizando princípios da eletroquímica, como eletrogravimetria, coulometria, condutometria, potenciometria e voltametria, sendo esta última a utilizada neste trabalho.

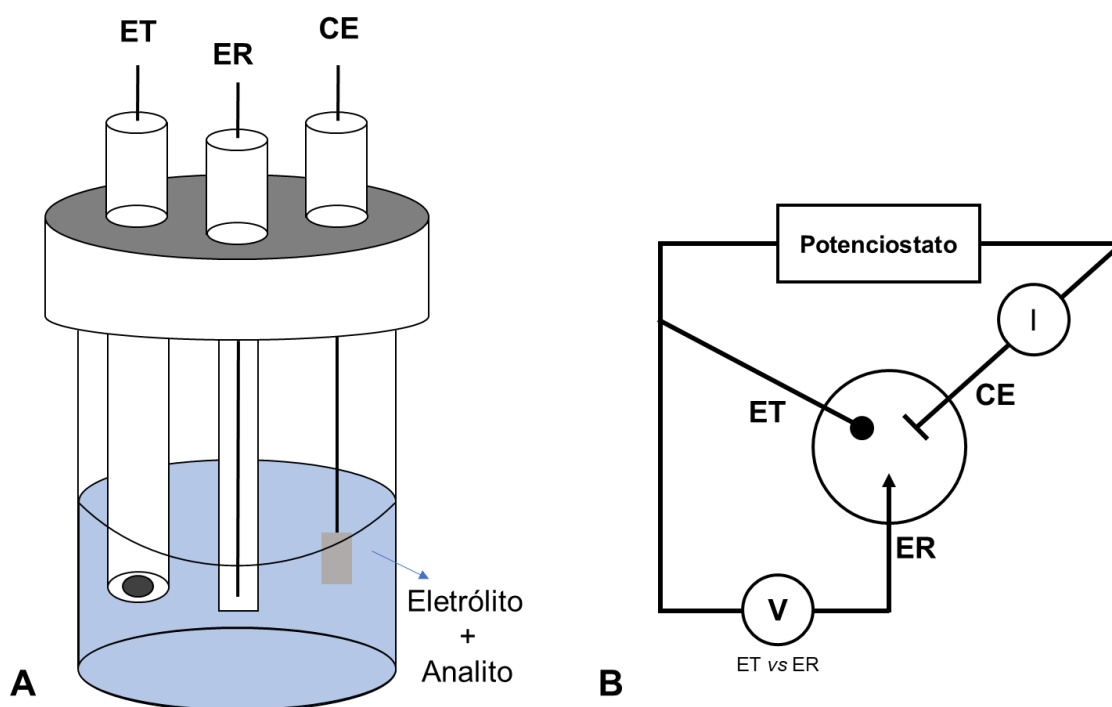
3.2.1. Célula eletroquímica e eletrodos

Na maioria das técnicas eletroquímicas as medidas são realizadas em uma célula eletroquímica como a ilustrada na Figura 3. Uma célula eletroquímica típica é composta por três eletrodos imersos em um eletrólito, em geral, uma solução tampão, contendo a espécie a ser estudada.

O eletrodo de trabalho (ET) é um componente essencial em uma célula eletroquímica, pois é nele que é aplicado uma diferença de potencial e medida a corrente elétrica associada as reações que ocorrem em sua superfície. O material do ET pode variar dependendo da aplicação, os mais comuns incluem os metais nobres (ouro e platina), carbono (carbono pirolítico, carbono vítreo, pasta de carbono,

nanotubos e diamante), metais líquidos (mercúrio e seus amálgamas) e semicondutores.[31] O eletrodo de referência (ER) possui um potencial elétrico fixo e conhecido, fornecendo uma referência estável para medir o potencial do eletrodo de trabalho (Figura 3B), ou seja, a diferença de potencial aplicada no eletrodo tem como base o potencial do eletrodo de referência. E por último, o contra eletrodo (CE), também denominado eletrodo auxiliar, ele é empregado para assegurar que a corrente resulte da varredura não percorra o eletrodo de referência. Os eletrodos são conectados em um amplificador operacional que atuará quando for aplicada uma diferença de potencial entre o ET e ER, causando um aumento na resistência do ER e diminuição da resistência do CE, fazendo a corrente fluir entre o ET e CE. Assim, proporciona um caminho adequado para a corrente fluir entre o CE e ET, garantindo que a medição seja precisa, controlada durante as reações eletroquímicas e evitando que ocorram distúrbios no ER.[29]

Figura 3. Representação de uma célula eletroquímica.



Fonte: Adaptado de Venton e DiScenza (2020) [29] e Kumar *et al.* (2019)[32]

Outros componentes importantes de uma célula eletroquímica são os solventes e eletrólito de suporte. A escolha do solvente utilizado pode ser determinada por

diversos fatores, incluindo a condutividade, solubilidade do analito e do eletrólito de suporte e reatividade. Além de possibilitar a dissolução do analito, um bom solvente pode diminuir efeitos indesejados durante as análises, como diminuir a adsorção das espécies na superfície do eletrodo. Já o eletrólito é uma espécie adicionada ao solvente para aumentar a condutividade e minimizar os efeitos de migração do analito.[33]

3.2.2. Voltametria cíclica

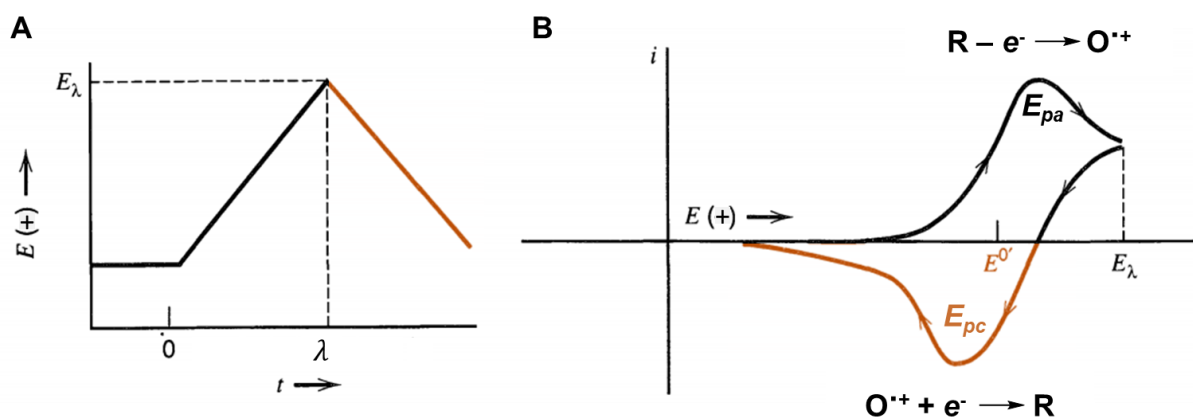
A voltametria cíclica é uma técnica de varredura poderosa empregada na identificação e caracterização de moléculas redox eletroativas, sendo amplamente adotada para investigações eletroquímicas iniciais de novos sistemas, revelando-se extremamente eficaz na obtenção de informações sobre reações eletroquímicas complexas.[28,29] Nesta técnica, aplica-se uma diferença de potencial dependente do tempo a um eletrodo e a corrente resultante é medida em relação ao potencial aplicado (Figura 4A) e o gráfico resultante da corrente em função do potencial é denominado voltamograma (Figura 4B). A posição do pico é determinada pelo potencial formal do composto detectado, resultando em diferentes voltamogramas para diferentes analitos, possibilitando que a técnica seja utilizada para determinação simultânea.[28]

A Figura 4 ilustra um processo de voltametria cíclica. Considerando um analito representado por R, ao iniciar uma varredura partido de potencial (E) negativo para potenciais mais positivos, inicialmente quando $E < E^0$ (Potencial padrão formal) apenas corrente não faradaica flui no sistema. Quando o potencial no eletrodo aproxima de E^0 inicia-se a oxidação de R e a corrente começa a fluir. Conforme o potencial aplicado desloca-se para valores mais positivos, a concentração de R na superfície do eletrodo diminui chegando próximo a zero quando $E > E^0$, enquanto a concentração de $O\cdot$ aumenta.

No tempo $t = \lambda$ ocorre a inversão na direção da varredura de potencial indo para direção negativa e a região próxima ao eletrodo possui concentração grande de $O\cdot$. Conforme o potencial aplicado aproxima e passa de E^0 , $O\cdot$ é reduzido e uma corrente catódica é observada. O gráfico da corrente em função do potencial para o processo

inverso tem formato muito parecido com o processo direto, e é denominado de voltamograma cíclico.[28]

Figura 4. (A) Sinal de excitação para a VC, (B) Voltamograma cíclico resultante.



Fonte: Adaptado de Bard et al. 2001.[28]

A partir dos voltamogramas cíclicos são obtidos parâmetros importantes como potencial de pico catódico (E_{pc}), potencial de pico anódico (E_{pa}), corrente de pico catódica (I_{pc}) e a corrente de pico anódica (I_{pa}). Com esses dados é possível inferir se uma reação eletródica é reversível, pois nesses casos os valores de corrente de pico catódico e anódico são aproximadamente iguais em valores absolutos, entretanto com sinais opostos. Além disso, para uma reação eletródica reversível a diferença entre os potenciais de pico, a 25 °C, deve ser de acordo com a equação abaixo (Equação 1):

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 0,059/n \quad \text{Equação 1}$$

onde n é o número de elétrons envolvidos na semi-reação. Reações que possuem cinéticas lentas de transferência de elétrons resulta em valores de $\Delta E_p > 0,059$ V e são quase-reversíveis ou irreversíveis.[34]

Embora a principal utilização da VC é para gerar informações qualitativas sobre processos eletroquímicos, principalmente na química orgânica e inorgânica, algumas informações quantitativas podem ser obtidas a partir da equação 2, de Randles-Sevcik.

$$I_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad \text{Equação 2}$$

onde I_p representa a corrente de pico (A), D o coeficiente de difusão (cm^2/s), v a velocidade de varredura (V s^{-1}), n o número de elétrons, C a concentração (mol cm^{-3}) e A representa a área eletroativa do eletrodo (cm^2).[28] Esta equação é muito utilizada para determinar a área eletroativa de eletrodos de trabalho.

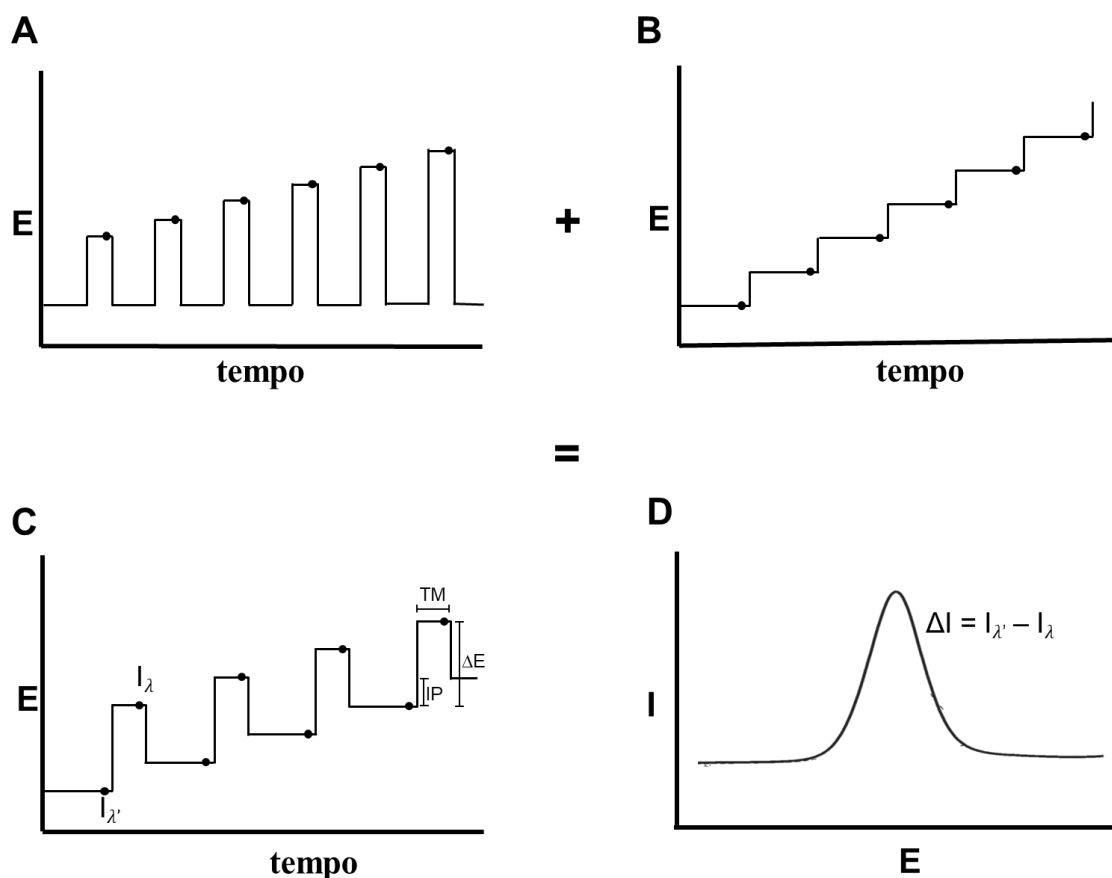
3.2.3. Voltametria de pulso diferencial

Para fins analíticos, várias formas de voltametria encontram-se em uso atualmente, como as voltametrias pulsadas. As técnicas pulsadas tiveram início na polarografia com uso do eletrodo gotejante de mercúrio, com objetivo de sincronizar os pulsos com o crescimento da gota e reduzir a corrente capacitiva fazendo a leitura da corrente apenas no final da vida da gota. Essa abordagem reduz a corrente capacitiva, pois ela diminui muito mais rapidamente que a corrente faradaica após aplicação do pulso de potencial. Com avanços na área, atualmente é possível utilizar técnicas pulsadas em eletrodos sólidos.

Na voltametria de pulso normal (VPN), precursora da diferencial, um potencial base (E_b) onde não ocorrem reações faradaicas é aplicado ao eletrodo, e pequenos pulsos com amplitude crescente (incremento fixo) são aplicados e a corrente medida ao final de cada pulso (Figura 5A).[35]

A voltametria de pulso diferencial (VPD) é similar à VPN com duas importantes diferenças: o potencial base sofre um incremento de valor fixo entre cada pulso (IP), como na voltametria de escada (Figura 5B); e a corrente é medida antes do pulso ($i_{\lambda'}$) e ao fim do pulso (i_{λ}), sendo o tempo em que o pulso é aplicado denominado tempo de modulação (TM) e a diferença entre o potencial inicial e final denominado amplitude (ΔE) (Figura 5C). Estas correntes são subtraídas ($I = I_{\lambda'} - I_{\lambda}$), eliminando a contribuição da corrente capacitiva ($I_{\lambda'}$) e plotadas contra o potencial da rampa linear, gerando um voltamograma de pulso diferencial, com a forma de uma curva gaussiana. [28,36]

Figura 5. Formas de aplicação de potencial em relação ao tempo e momento da medida de corrente para as técnicas de **A)** voltametria de pulso normal, **B)** voltametria de escada, **C)** voltametria de pulso diferencial e **D)** voltamograma resultante. • Medida da corrente.



Fonte: Adaptado de Brett et al. (1993) e Bard et al. (2001).[28,35]

Como pode ser observado na Figura 5, a VPD pode ser compreendida como uma junção da voltametria de pulso normal com aplicação de potencial na forma de escada.

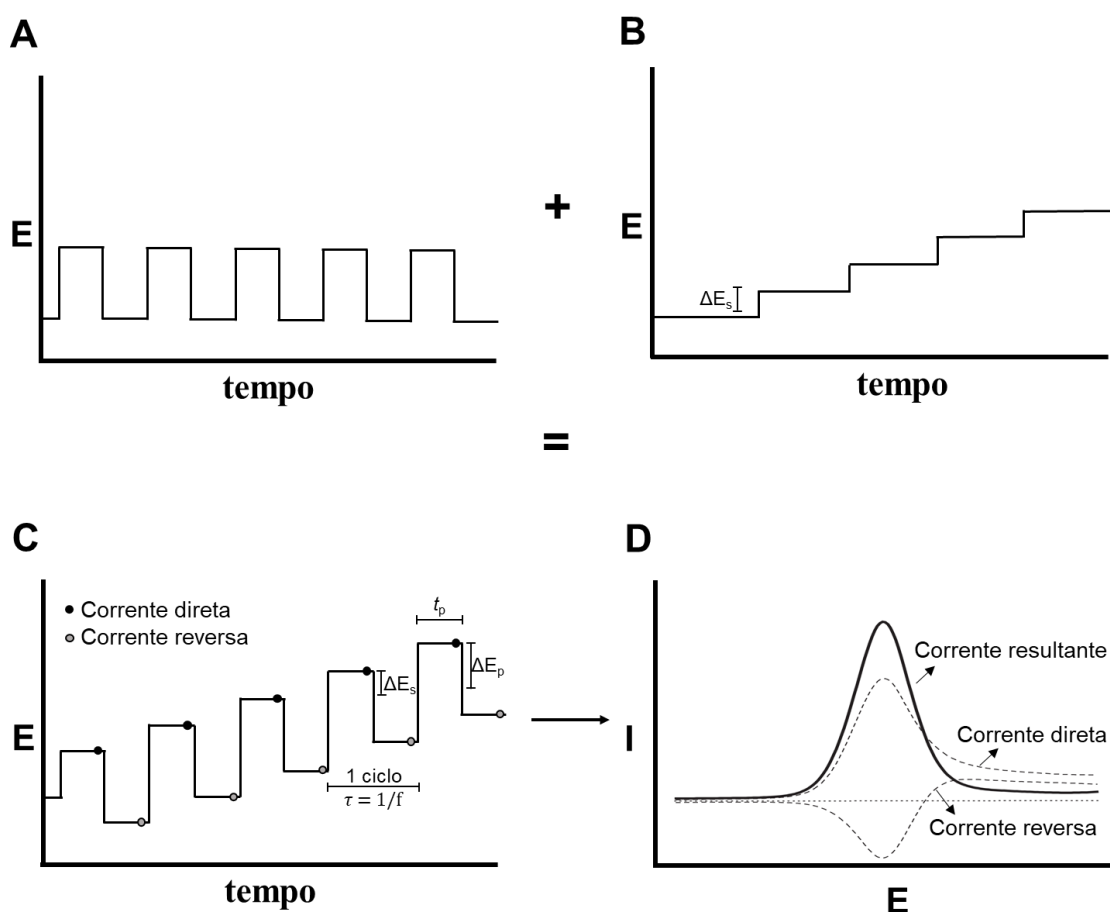
3.2.4. Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada (VOQ) é um tipo de voltametria de pulso que oferece vantagem de altas velocidades de análise e elevada sensibilidade (com limites de detecção que podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas) comparada com as demais técnicas pulsadas. Enquanto a VPN e VPD a velocidade

de varredura é na faixa de $1 - 10 \text{ mVs}^{-1}$, a VOQ pode alcançar velocidade de 1 Vs^{-1} . [35,36]

Esta técnica foi inventada em 1952 por Geoffery Barker que buscava uma forma de compensar a corrente capacitiva residual obtida nas análises, que consistiu na aplicação de pulsos na forma de onda quadrada (Figura 6A) sobreposto com uma rampa escalonada em degraus (Figura 6B). Onde cada ciclo da onda quadrada corresponde à duração de um degrau da rampa (Figura 6C). [36]

Figura 6. Aplicação de potencial da VOQ: soma da (A) onda quadrada e (B) rampa escalonada em degraus. C) Perfil da VOQ e (D) voltamograma da VOQ.



Fonte: Adaptado de Brett et al. (1993) e Bard et al. (2001). [28,35]

Os principais parâmetros da VOQ podem ser observados na Figura 6A, como a altura de pulso (ΔE_p) medida em relação ao potencial do degrau, a largura de pulso (t_p) e cada ciclo da onda quadrada pode ser definido como $\tau = 2t_p$. Alternativamente, a largura de pico e ciclo podem ser expressos em termos da frequência da onda

quadrada sendo $t_p = 1/2f$ e $\tau = 1/f$. Como o potencial aplicado aumenta por um fator de ΔE_s após cada ciclo, a velocidade de varredura pode ser dada por $v = \Delta E_s/\tau = f\Delta E_s$. [28]

Na VOQ a corrente é medida duas vezes por ciclo, ao final de cada pulso. Assim a primeira corrente obtida é denominada de corrente direta (I_D), pois o pulso é aplicado na direção da escada, enquanto a segunda corrente é denominada reversa (I_R), quando o pulso é aplicado em sentido contrário. O voltamograma obtido é resultado da subtração dessas correntes ($\Delta I = I_D - I_R$), com I_D e I_R possuem sinais opostos, ΔI será de maior magnitude dando maior sensibilidade à técnica. A VOQ pode ser utilizada para estudar a reversibilidade de sistemas eletroquímicos, uma vez que além do voltamograma resultante, os voltamogramas nos sentidos direto e reverso podem ser analisados separadamente. Além disso, para sistemas reversíveis o valor de ΔI será maior que sistemas irreversíveis. [28]

3.3. Eletrodos compósitos

Eletrodos compósitos (EC) podem ser definidos como eletrodos constituídos de um material formado por pelo menos uma fase condutora e uma fase isolante, em que cada componente individual apresenta sua natureza original e deve ser visto como um todo com peculiaridades químicas, mecânicas e físicas distintas. O tipo mais comum de EC apresenta apenas uma fase de cada material. [37,38]

Estes eletrodos apresentam vantagens quando comparados com os eletrodos tradicionais compostos por apenas uma fase condutora, como mercúrio, platina, carbono vítreo etc. Os ECs podem ser fabricados em vários tamanhos e formatos, possibilitando adaptações para várias configurações de eletrodos. Além disso, quando usado como fase condutora metais preciosos, os ECs proporcionam o uso de menor quantidade desses metais, influenciando diretamente no custo do eletrodo. E quando comparados com os eletrodos com superfície modificada, os ECs apresentam vantagem de possibilidade de renovação da superfície sem perda do modificador. [37]

Adams (1958) durante suas pesquisas com eletrodos a base de carbono acabou por desenvolver um eletrodo de pasta de carbono-bromofórmio com propriedades e vantagens únicas para polarografia anódica. À época para polarografia anódica eram usados eletrodos de haste de carbono, mas estes requeriam uma etapa de impregnação com cera para fornecerem resultados reprodutíveis, já o eletrodo de pasta podia ser preparado em 5 minutos e utilizados repetidas vezes com resultados precisos.[39] Assim, podemos considerar o desenvolvimento dos eletrodos de pasta como um dos primeiros passos para os ECs.

Os ECs podem ser classificados baseado na forma que o material condutor e isolante está distribuído no compósito, podendo ser de forma ordenada ou randômica. Os compósitos em que a fase condutora está disposta de forma ordenada na fase isolante normalmente são fabricados utilizando técnicas de litografia.

Já os ECs onde o condutor está distribuído de forma randômica na matriz do compósito (também chamado de compósito disperso) são construídos por uma mistura uniforme do condutor (normalmente em pó), com um isolante líquido ou viscoso. Muitas vezes a fase isolante é composta por um polímero, sendo que esta fase pode ser inicialmente um monômero que vai sofrer polimerização ao longo da fabricação do compósito como casos dos compósitos a base de epóxi.[40,41]

Por outro lado, pode ser utilizado o próprio polímero derretido ou solubilizado em um solvente volátil, desta forma após o polímero ficar em uma textura maleável, a fase condutora pode ser incorporada por pressão mecânica ou simples agitação.[42,43] Quando o polímero retorna à sua forma original, seja por diminuição da temperatura ou evaporação do solvente, é obtido o compósito sólido. Neste trabalho esta abordagem foi utilizada para fabricação do compósito disperso.

Além das vantagens expostas anteriormente, os ECs podem ser aplicados para determinação de analitos em diversas áreas como meio ambiente, toxicologia, bioquímica, análises de alimentos e produtos farmacêuticos.[44]

3.3.1. Fase condutora

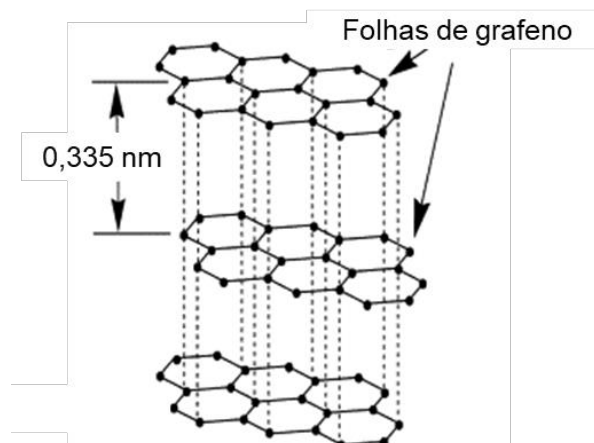
Diversos materiais condutores - metais ou ametais - podem ser utilizados para como fase condutora na confecção de eletrodos compósitos. Materiais a base de carbono são amplamente empregados na fabricação de ECs, podendo ser encontrados em diversas formas, como grafite,[45] fibras e nanotubos de carbono,[46,47] grafeno,[48] entre outros.

ECs a base de grafite oferecem alta condutividade elétrica e são relativamente estáveis em solventes orgânicos por longos períodos, possibilitando seu uso em meios não aquosos. Além disso, oferece alta inércia química, acompanhada com uma ampla faixa de potencial de trabalho podendo abranger janelas de -2,15V a 1,90V dependendo do eletrólito utilizado.[49]

Na forma alotrópica de grafite, o carbono possui o menor estado energético a temperatura e pressão ambiente. Sua rede cristalina consiste em pilhas de folhas de grafeno bidimensionais paralelas com todos os átomos de carbono hibridizados em sp^2 ligados em anéis hexagonais. As folhas de grafenos são mantidas juntas por forças fracas de van der Waals, podendo deslizar facilmente em relação às outras (Figura 7).[50]

Essa rede cristalina confere ao grafite uma característica anisotrópica, sendo um bom condutor elétrico e térmico nas camadas de grafeno devido à sobreposição dos orbitais $2p_z$ paralelos, enquanto possui baixa condutividade perpendicular às camadas de grafeno devido as forças fracas de van der Waals entre as camadas.[51]

Figura 7. Estrutura cristalina do grafite



Fonte: Adaptado de Sengupta *et al.* 2001.[50]

Blanco-López *et al.* (2004) utilizaram ECs de diferentes composições – politetrafluoroetileno-grafite (PTFE-G), epóxi-grafite (EG), epóxi-negro de carbono (E-CB) – para detecção do fármaco diclofenaco utilizando VC e VPD. Os autores compararam o uso de grafite e carbono negro como fase condutora, chegando à conclusão de que o grafite apresentou melhor resultado.[52]

Espécies metálicas também podem ser determinadas utilizando ECs. Pumera *et al.* (2005) utilizaram um EC de grafite-epóxi para propor um novo método voltamétrico para determinação direta de nanopartículas de ouro, baseado na adsorção das nanopartículas na superfície do EC, seguido de oxidação eletroquímica em um meio $0,1\text{molL}^{-1}$ de HCl a um potencial de $+1,25\text{V}$, obtendo limite de detecção de $1,8 \times 10^8$ nanopartículas cm^{-3} .[53]

Eletrodo compósito de grafite-epóxi também foi utilizado para determinação de metais por Carrégalo *et al.* (2004). Para determinação dos metais pesados Cd e Cu, os autores utilizaram voltametria de pulso diferencial com redissolução anódica, e os resultados comparados com eletrodo de carbono vítreo (ECV). O EC apresentou melhores propriedades de acumulação e conseqüentemente mais apropriado como eletrodo de trabalho para redissolução anódica, obtendo limites de detecção de $100 \mu\text{gL}^{-1}$ para Cd e $50 \mu\text{gL}^{-1}$ para Cu.[54]

Saciloto *et al.* (2013) confeccionaram EC de grafite-poliuretano utilizando a técnica de impressão e os utilizaram para determinação simultânea de cafeína e

acetaminofeno (paracetamol) com limites de detecção de $1,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,84 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Como esses princípios ativos podem ser encontrados em mesmas formulações, a determinação simultânea se mostra vantajosa.[55]

Os eletrodos compósitos a base de grafite podem ser usados para determinação de espécies de interesse ambiental como demonstrado por Fernández *et al.* (1995). Os autores utilizaram um EC de grafite-poli(tetrafluoroetileno) para quantificação dos herbicidas tirame e dissulfiram.[56]

Apesar das inúmeras aplicações dos ECs na literatura, até o momento não foram encontrados trabalhos descrevendo a quantificação de fenetilaminas utilizando este tipo de eletrodo. Sendo uma área ainda a ser explorada.

3.3.2. Fase isolante ou aglutinante

Na literatura são encontrados diversos materiais utilizados na confecção de ECs a base de grafite, como policloreto de vinil (PVC), copolímero de estireno-acrilonitrila, resina epóxi, poliuretano, poliéster, poliestireno, polipropileno, polietileno, policaprolactona (PCL). [57–65]

Como pode ser observado a fase aglutinante normalmente é composta por um polímero ou mistura de polímeros. Isso devido a esses materiais atenderem alguns requisitos importantes para fabricação de eletrodos compósitos, como serem quimicamente inerte, não possuir atividade eletroativa, insolúvel em meio aquoso, alta viscosidade, elevada pureza, baixa volatilidade, entre outros.

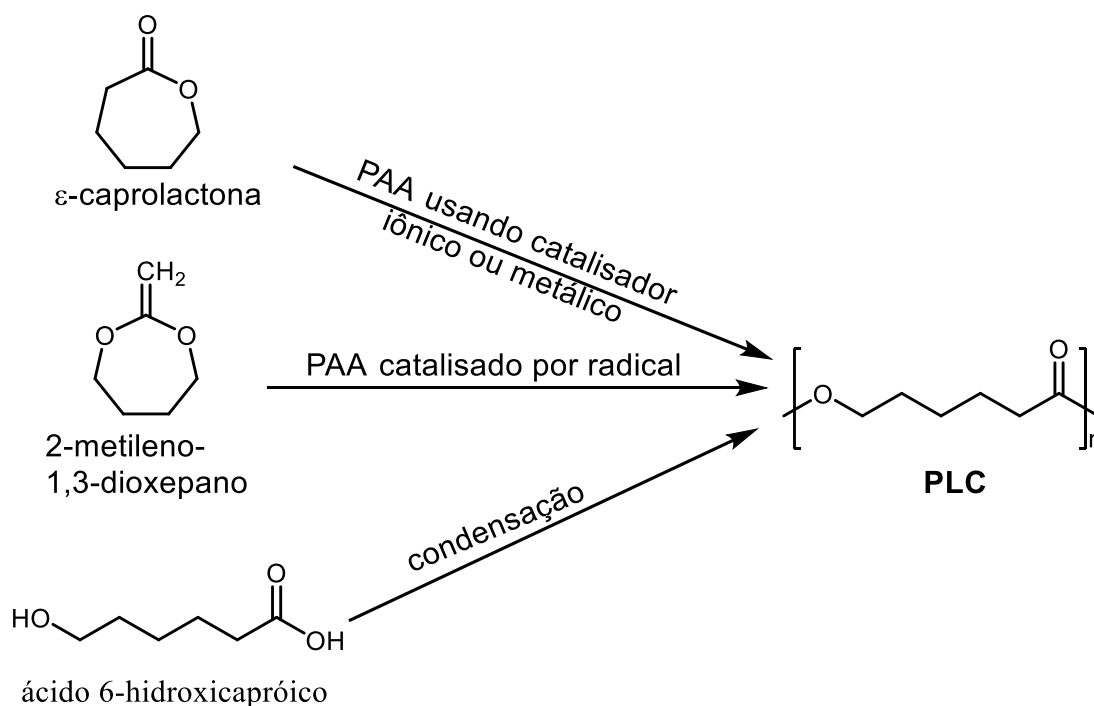
Apesar de ainda ser pouco utilizada para fabricação de eletrodos compósitos, a policaprolactona (PCL) é um termoplástico de baixo custo, com facilidade de processamento devido ao seu baixo ponto de fusão e alta solubilidade em diversos solventes orgânicos, além de não ser condutor.[66]

A PCL é um polímero sintético biodegradável hidrofóbico, possui estrutura semicristalina com temperatura de transição vítrea de $-60 \text{ }^\circ\text{C}$ e temperatura de fusão na faixa de 59 a $64 \text{ }^\circ\text{C}$. Por ser um polímero, sua massa molecular pode variar de 3000

a $90.000 \text{ g mol}^{-1}$, sendo que sua cristalinidade tende a diminuir com aumento do peso molecular. Sua baixa temperatura de fusão e excepcional capacidade de formar misturas com outros polímeros confere à PCL a possibilidade de ser aplicada em diversos campos, incluindo biomedicina, implantes médicos, entrega controlada de drogas, fabricação de embalagens, entre outros.[67,68]

O processo de síntese da PCL pode ser realizado por 3 rotas, seja pela reação polimerização por abertura de anel (PAA) do monómero cíclico ϵ -caprolactona utilizando catalisadores aniônicos, catiônicos ou de coordenação, ou via abertura de anel catalisada por radicais livres seguido de polimerização do 2-metileno-1,3-dioxepano. Ou ainda pela condensação do ácido 6-hidroxicapróico (Figura 8).[66]

Figura 8. Diferentes rotas para síntese da PCL



PAA - polimerização por abertura de anel

Apesar das características da PCL, existem poucos relatos de seu uso para confecção de eletrodos, sendo eles apresentados a seguir.

Leone *et al.* (2021) utilizou a PCL como um modificador de eletrodo para detecção de dopamina. Para isso um eletrodo de óxido de índio e estanho foi revestido com PCL contendo grupos carboxila terminais e apresentou boa atividade e seletividade para dopamina.[69]

Lee *et al.* (2020) confeccionaram um eletrodo compósito de grafeno/PCL. O EC foi obtido pela técnica de impressão multicamadas obtendo um eletrodo 3D contendo 10% de grafeno. No entanto, o objetivo central deste estudo não consistiu na aplicação do eletrodo para fins eletroanalíticos. Os pesquisadores evidenciaram a biocompatibilidade do eletrodo por meio da resposta eletroquímica induzida por uma microalga cultivada sobre o substrato grafeno/PCL. Adicionalmente, propuseram que este material condutor biodegradável possui potencial para ser empregado na estimulação elétrica com vistas à promoção da formação de tecidos para aplicações em medicina regenerativa e em dispositivos bioeletrônicos.[67]

Clark *et al.* (2022) desenvolvem um EC a base de grafite/PCL (2:1) contendo 10% de ftalocianina de cobalto e glicose oxidase. O eletrodo foi utilizado para quantificação de glicose utilizando amperometria a +0,6 V, demonstrando uma resposta linear na faixa de 0 – 3,35 mmolL⁻¹ de glicose. Os resultados demonstraram que a partir de um compósito grafite/PCL foi possível elaborar um sensor enzimático para glicose, abrindo possibilidades para novos sensores a partir de mudança da enzima utilizada.[68]

Silva *et al.* (2020) construíram um EC a base de grafite/PCL avaliando proporções de 30 – 80% de grafite, sendo os melhores resultados o eletrodo contendo 70% de grafite. O eletrodo foi utilizado para determinação simultânea dos fármacos anti-hipertensivos amlodipina e hidroclorotiazida utilizando VPD, com limites de detecção de $6,8 \times 10^{-8}$ e $2,7 \times 10^{-7}$ molL⁻¹, respectivamente.[10] Este trabalho citado foi desenvolvido em nosso grupo de pesquisa e serviu de base para proposta do trabalho descrito nessa tese.

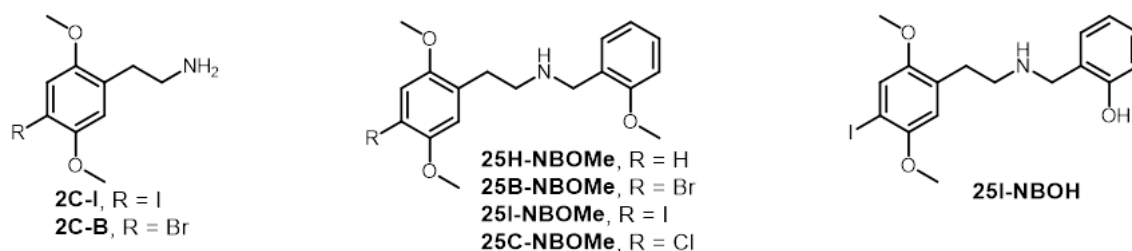
3.4. Uso de técnicas voltamétricas para estudo e determinação de nova substâncias psicoativas (NPS)

A análise de drogas ilícitas é um ramo importante da ciência forense moderna, com diversas implicações legais e sociais relevantes em investigações forenses. Ultimamente as técnicas eletroquímicas têm se destacado como uma tecnologia de análise e detecção de drogas ilícitas em rápido desenvolvimento, devido às suas várias vantagens, como alta precisão, sensibilidade elevada, rápida capacidade de

resposta, facilidade de uso, portabilidade, capacidade de miniaturização e automação, entre outras.

A classe das fenetilaminas inclui substâncias como as anfetaminas e derivados, MDMA, drogas do tipo 25X-NBOH, 25X-NBOMe e 2C (Figura).

Figura 11. Estruturas das fenetilaminas estudadas por voltametria.



Andrade *et al.* (2016) descreveram o primeiro estudo eletroquímico para as fenetilaminas 2C-B, 25B-NBOMe e 25I-NBOMe utilizando eletrodos impressos de carbono. A partir dos dados de VC foi possível sugerir um mecanismo de oxidação para as drogas, envolvendo a oxidação dos grupos amino e halogênio. Um método analítico usando a VPD foi otimizado para quantificação de 25B-NBOMe e 25I-NBOMe em selos, com LQ de 0,034 e 0,012 mg mL⁻¹, respectivamente.[70]

25B-NBOMe, 25I-NBOMe, 2C-B, além de 25C-NBOMe também foram estudadas por Souza *et al.* (2018) por VC e VOQ utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB). O método proposto mostrou-se eficaz para quantificação das drogas em amostras reais, além do LSD não se mostrar como interferente.[71] González-Hernández *et al.* (2021) também utilizou EDDB, além de eletrodos impressos a base de carbono e platina para determinação das fenetilaminas 25B-NBOMe e 2-(1*H*-indol-3-il)-*N,N*-dimetiletanamina (DMT), além de derivados de piperazinas. O método analítico empregando EDDB e VPD apresentou menores LD e LQ para 25B-NBOMe de 0,24 e 0,81 µg mL⁻¹, respectivamente. Todos os eletrodos foram utilizados com sucesso para quantificação das drogas em amostras de saliva fortificadas.[72]

Andrade e Gonzalez-Rodriguez (2019) publicaram um novo trabalho analisando 2C-I e 25I-NBOH novamente utilizando eletrodos impressos de carbono. A 25I-NBOH é uma molécula termolábil e sofre degradação nas análises de rotina que normalmente envolve o uso de cromatografia a gás acoplado a detecção por massas,

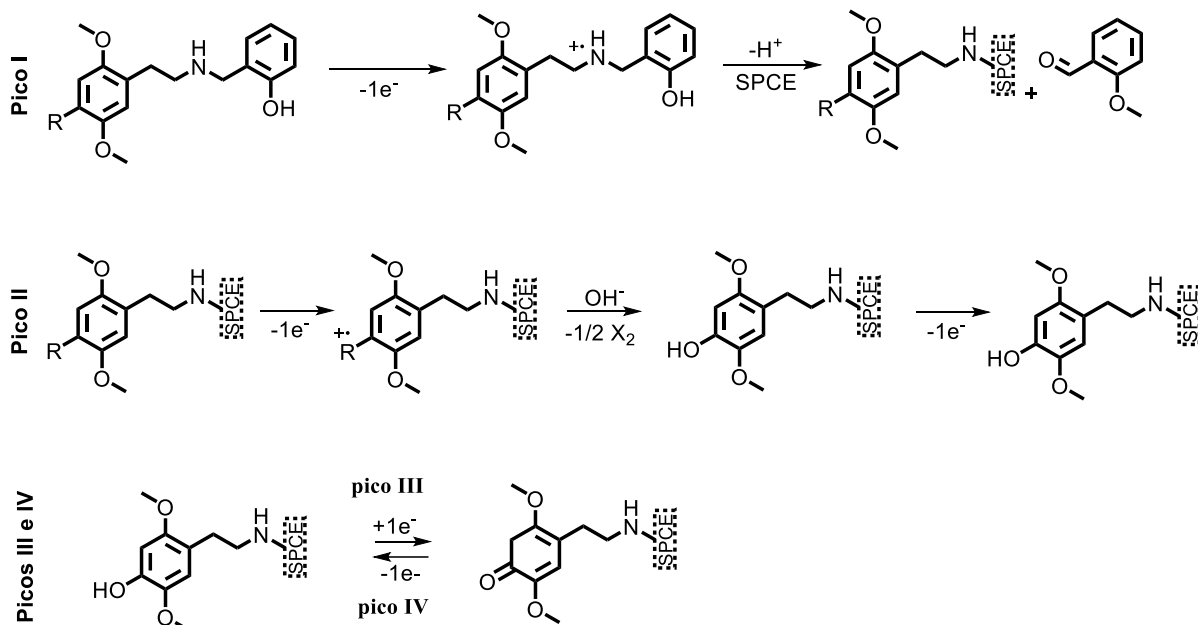
levando a erros em sua identificação. Essa degradação leva a 25I-NBOH ser identificada como 2C-I. O método voltamétrico demonstrou ser extremamente útil para diferenciar 25I-NBOH de 2C-I evitando erros de identificação que são típicos quando o 25I-NBOH é submetido a análises de GC-MS.[73]

25H-NBOMe também já foi determinada utilizando VOQ com ECV sendo possível a quantificação da droga numa concentração de $1,28 \mu\text{molL}^{-1}$ com exatidão de 96,44%. Apesar deste trabalho ser o primeiro demonstrando uma técnica voltamétrica para análise da 25H-NBOMe, os autores não sugeriram nenhum mecanismo de oxidação para a droga.[74]

Além da quantificação das drogas utilizando voltametria, a maioria dos trabalhos disponíveis na literatura utilizam técnicas voltamétricas para estudar processos redox que ocorrem na superfície do eletrodo e entender o mecanismo de oxidação do analito, principalmente utilizando voltametria cíclica. Vale ressaltar que só foram encontrados trabalhos que propõem mecanismo de oxidação para 25X-NBOH e 25X-NBOMe onde o substituinte R se trata de um halogênio (Br ou I). Esses trabalhos evidenciam que as fenetilaminas substituídas apresentam perfil voltamétrico na VC semelhantes entre si.

Conforme evidenciado por Andrade et al. (2016), a VC para 25B-NBOMe apresentou dois picos de oxidação, um em + 1,04 V (pico I) e outro em +1,25 V (pico II), um pico de redução em +0,06 V (pico III) e um terceiro pico de oxidação em +0,12 V (pico IV), sendo este último pico de oxidação observado apenas na segunda varredura. Os autores observaram o mesmo perfil voltamétrico para 25I-NBOMe com picos em valores de potenciais próximos ao reportado para 25B-NBOMe. A partir desses dados propuseram que o pico I é referente à oxidação da amina secundária, seguido de hidrólise formando o derivado 2C-I ou 2C-B, o pico II foi atribuído à oxidação do halogênio presente na fenetilamina, seguido de substituição por uma hidroxila, gerando um intermediário fenol que é oxidado à carbonila.[70] E os picos III e IV atribuídos ao equilíbrio ceto-enol conforme apresentado no esquema abaixo.

Esquema 1. Proposta de mecanismo para 25B-NBOMe e 25I-NBOMe publicada por Andrade et al. (2016), X = Br ou I. [70]



A mesma proposta de mecanismo foi publicada pelos mesmos autores para 25I-NBOH.[73] Souza *et al.* (2018) também publicou uma proposta de mecanismo pra 25X-NBOMe (X = I, Br e Cl) em meio ácido. As etapas gerais mostradas por Souza *et al.* (2018) são semelhantes ao descrito anteriormente, entretanto os autores atribuíram o pico I à oxidação do halogênio, enquanto o pico II foi atribuído à oxidação da amina.[71]

Como pode ser observado, são poucos os relatos do uso de técnicas voltamétricas para determinação de fenetilaminas substituídas, e que até o momento nenhum trabalho foi realizado com as drogas 25H-NBOH e 25B-NBOH utilizadas neste trabalho.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes e soluções

Todos os padrões de 25X-NBOH e 25X-NBOMe utilizados neste trabalho foram previamente preparados e purificados pelo nosso grupo de pesquisa de acordo com Barros *et al.* (2021).[75] Os demais reagentes empregados neste estudo foram de pureza analítica utilizados sem purificação adicional e suas especificações estão detalhadas na Tabela 2. As soluções foram preparadas utilizando água ultrapura com uma resistividade de 18,2 MΩ·cm, a qual foi obtida por meio de um sistema Milli-Q® Gradiente da Millipore (Bedford, EUA).

O tampão Britton-Robinson (BR) 0,1 mol L⁻¹ foi empregado como eletrólito de suporte, sendo preparado mediante o uso de ácido acético, ácido bórico e ácido fosfórico. O pH final (2, 4, 6, 8, 10 e 12) foi ajustado pela adição de NaOH a uma concentração de 2,0 mol L⁻¹. Todas as soluções foram armazenadas sob refrigeração.[76]

Soluções estoque das drogas 25H-NBOH, 25B-NBOH, 25I-NBOH, 25H-NBOMe, 25B-NBOMe e 25I-NBOMe foram preparadas em DMSO/água deionizada (1:1) a uma concentração de 1,0 mg mL⁻¹ e diluídas para a concentração desejada em solução tampão BR 0,1 mol L⁻¹.

Tabela 2. Especificações dos reagentes utilizados.

Reagente	Fórmula química	Marca	Massa molecular / g mol ⁻¹	Pureza / %
25H-NBOH	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	- ^a	287,36	-
25B-NBOH	C ₁₇ H ₂₀ BrNO ₃	- ^a	366,26	-
25I-NBOH	C ₁₇ H ₂₀ INO ₃	- ^a	413,26	-
25H-NBOMe	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	- ^a	301,39	-
25B-NBOMe	C ₁₈ H ₂₂ BrNO ₃	- ^a	380,28	-
25I-NBOMe	C ₁₈ H ₂₂ INO ₃	- ^a	427,28	-
Ácido acético	C ₂ H ₄ O ₂	Dinâmica	60,05	99 – 100,5

Ácido bórico	H ₃ BO ₃	Vetec	61,83	
Ácido fosfórico	H ₃ PO ₄	Dinâmica	97,99	85,0
Cloreto de cálcio di-idratado	CaCl ₂ .2H ₂ O	Vetec	147,02	
Cloreto de potássio	KCl	Dinâmica	74,55	99,5
Cloreto de sódio	NaCl	Sigma-Aldrich	58,44	
Clorofórmio	CHCl ₃	Dinâmica	119,38	99,0
Dimetilsulfóxido	C ₂ H ₆ OS	Vetec	78,13	
Ferricianeto de potássio	C ₆ N ₆ FeK ₃	Vetec	329,24	98,5 – 102,0
Fosfato de monobásico	KH ₂ PO ₄	Sigma-Aldrich	136,09	99,0
Grafite < 45 um	C	Sigma-Aldrich	12,01	-
Hidróxido de sódio	NaOH	Sigma-Aldrich	39,99	98,0
Policaprolactona		IC-3D TechTachTM		
Sulfato de sódio	Na ₂ SO ₄	Vetec	142,04	

^a 25X-NBOH e 25X-NBOMe utilizados neste trabalho foram previamente preparados e purificados pelo nosso grupo de pesquisa de acordo com Barros et al. (2021).[75]

4.2. Instrumentação

As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT302N controlado pelo software Nova 2.1.4. Todos os voltamogramas obtidos a partir de técnicas pulsadas foram submetidos a técnicas de suavização usando Savitzky-Golay e correção de linha de

base via média móvel para melhorar a clareza e identificação de picos. As medidas foram realizadas em uma célula eletroquímica de 10 mL, utilizando 2,0 mL de solução de trabalho e um sistema de três eletrodos, com uma placa de platina como eletrodo auxiliar, Ag|AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$) como referência, e um eletrodo compósito (EC) como eletrodo de trabalho.

As medidas de pH foram realizadas em um pHmetro de bancada pH Pro da marca LineLab. Para as pesagens dos padrões foi utilizada uma balança analítica Shimadzu AUW220D (min. 1 mg), as demais pesagens foram realizadas em uma balança analítica Shimadzu AUY220 (min. 10 mg).

Para diluição das soluções estoque foram utilizadas micropipetas e pipetas automáticas Smart e KASVI de volumes variados $0,5 - 10 \mu\text{L}$, $20 - 200 \mu\text{L}$, $100 - 1000 \mu\text{L}$ e $1 - 10 \text{ mL}$ e um banho ultrassônico Unique modelo Ultra Cleaner 1400. A solução da célula eletroquímica foi agitada utilizando um agitador magnético IKA RCT basic.

4.3. Fabricação dos eletrodos

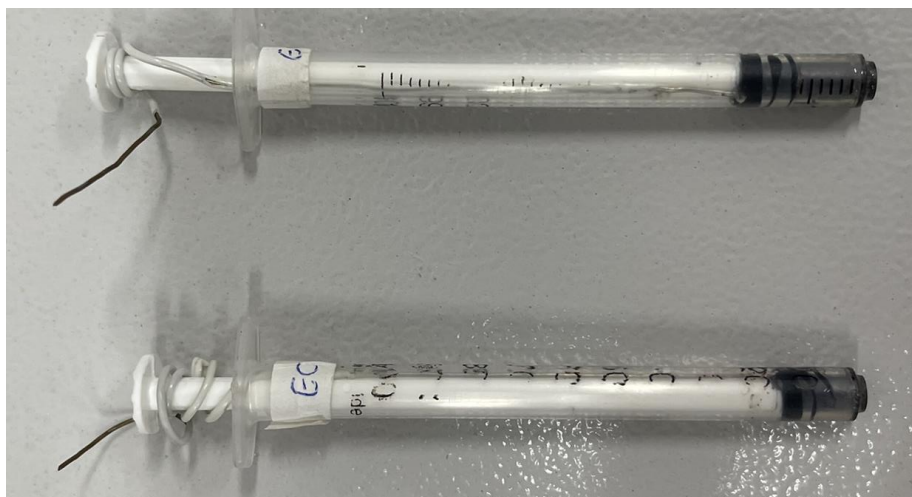
4.3.1. Eletrodo de referência

O eletrodo de referência prata/cloreto de prata (Ag|AgCl) foi confeccionado de acordo com Zoski 2017,[77] por meio da eletrodeposição de cloreto de prata na superfície de um fio de prata. O fio de prata foi previamente limpo com lixa d'água grão 600 e 1200, seguido de lavagem com solução de ácido nítrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Para a eletrodeposição, foi utilizado como cátodo uma placa de platina e o fio de Ag como ânodo em uma solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, a corrente aplicada foi definida pela área ativa do fio de Ag, sendo aplicado $0,4 \text{ mA/cm}^2$ por 30 minutos. Após a eletrodeposição o fio de Ag|AgCl foi armazenado em água deionizada sob ausência de luz por 24 h, em seguida o fio foi colocado no interior de um tubo de suporte contendo KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ e armazenado por mais 24 h antes do uso.

4.3.2. Eletrodo de trabalho

A construção do eletrodo compósito baseado em grafite:PCL (7:3) foi realizada de acordo com os procedimentos descritos por Silva et al. [78]. A PCL foi solubilizada em quantidade apropriada de clorofórmio, o grafite em pó foi incorporado à solução de PCL por homogeneização manual em almofariz de ágata por 20 minutos. O compósito foi introduzido em uma seringa do tipo insulina de polipropileno com capacidade de 1,0 mL (diâmetro interno de 1,0 mm). Um fio de cobre foi fixado ao êmbolo da seringa para estabelecer contato elétrico do eletrodo. A mistura foi compactada mecanicamente por 7 dias até a completa evaporação do solvente. Antes das medidas, a superfície do eletrodo foi exposta através de polimento mecânico utilizando lixa d'água com sequência granulométrica de 300, 600, 1200, 1500, 2000 e 3000, em seguida lavados com água deionizada e armazenado até o uso. Antes de cada medida a superfície do eletrodo era novamente polida com lixa d'água grão 3000. O eletrodo confeccionado encontra-se apresentado na Figura 9.

Figura 9. Eletrodo compósito baseado em grafite:PCL (7:3)



4.4. Procedimentos experimentais

4.4.1. Caracterização voltamétrica dos ECs empregando uma solução de ferricianeto de potássio

Os ECs foram caracterizados utilizando voltametria cíclica (VC) usando ferricianeto de potássio 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,5 mol L⁻¹. Para determinação da área eletroativa do eletrodo de trabalho foi utilizada uma janela de potencial de 0,4 V a 0,8 V com velocidades de varredura de 10, 25, 50, 75, 100, 150 e 200 mV s⁻¹.

A área eletroativa foi estimada utilizando a Equação 3 de Randles-Sevcik rearranjada.

$$A = I_p / (2,686 \times 10^5 \cdot \nu^{1/2} \cdot n^{3/2} \cdot C \cdot D^{1/2}) \quad \text{Equação 3}$$

onde A representa a área eletroativa do eletrodo (cm²), I_p a corrente de pico (A), D o coeficiente de difusão de K₃[Fe(CN)₆] (1,76x10⁻⁶ cm² s⁻¹[78]), ν a velocidade de varredura (V s⁻¹), n o número de elétrons, e C a concentração de K₃[Fe(CN)₆] (mol cm⁻³).

4.4.2. Estudos voltamétricos para as drogas

4.4.2.1. Voltametria cíclica

Os estudos preliminares para explorar o comportamento eletroquímico das drogas (25X-NBOH, com X = H, Br e I; 25X-NBOMe com X = H, Br e I) foram realizados com concentração de 25 µg mL⁻¹ em tampão BR pH 4,0. Os voltamogramas foram obtidos em triplicata na janela de -1,0 V a 1,5 V e velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

Os estudos adicionais para investigar o mecanismo de oxidação de 25H-NBOH e 25B-NBOH foram realizados em diferentes janelas de potencial: -0,8V – 0,4 V; 0,4 V – 0,95 V; e 0,95 V – 1,5 V, a 50 mV s⁻¹.

Para estudo da influência da velocidade de varredura obteve-se voltamogramas na janela de potencial de -0,8 V a 1,5 V nas velocidades de varredura de 10, 25, 50, 75, 100, 200 e 300 mV s⁻¹.

4.4.2.2. Voltametria de pulso diferencial

Os voltamogramas de pulso diferencial preliminares para 25H-NBOH e 25B-NBOH foram obtidos a uma concentração de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 8 numa janela de potencial de $-0,79 \text{ V}$ a $1,5 \text{ V}$ e incremento de varredura de 10 mV .

A influência do pH foi investigada utilizando as condições acima, utilizando tampão BR ajustado para os pH de 2,0, 4,0, 6,0, 8,0, 10,0 e 12,0.

Os parâmetros da VPD, tais como incremento de potencial (IP), amplitude de pulso (ΔE) e tempo de modulação (TPC), foram avaliados para obter as melhores condições experimentais para o método proposto. Estes estudos foram conduzidos utilizando 600 ng mL^{-1} das drogas em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR pH 8,0, com valores de incremento de $1,0, 3,0, 5,0, 7,0$ e $10,0 \text{ mV}$; amplitudes de pulso de $10, 30, 50, 70$ e 100 mV ; e tempo de modulação de $0,01, 0,03, 0,05, 0,07$ e $0,1 \text{ s}$.

Além disso, para determinação do tempo de pré-concentração foram avaliados os intervalos de $0, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300$ e 360 s , com agitação magnética a 280 rpm , imediatamente antes de cada leitura, e com os parâmetros experimentais do VPD otimizados.

A precisão do método foi avaliada em termos da reprodutibilidade e repetibilidade e avaliado em 3 níveis de concentração ($200, 400$ e 600 ng mL^{-1}). Para repetibilidade foram feitas medidas sucessivas ($n = 6$) em um único dia, para reprodutibilidade foram realizadas medidas sucessivas ($n = 3$) por três dias consecutivos. O resultado foi expresso em termos de desvio padrão relativo (%DPR).

4.4.2.3. Curvas analíticas para 25H-NBOH e 25B-NBOH

Os parâmetros VPD adotados para construção das curvas analíticas para 25H-NBOH e 25B-NBOH foram incremento de potencial de 10 mV , amplitude de pulso de 50 mV , tempo de modulação de $0,05 \text{ s}$ e janela de potencial de $0,45 \text{ V}$ a $0,90 \text{ V}$, com tempo de pré concentração de 180 s para o 25H-NBOH e 300 s para o 25B-NBOH, em circuito aberto.

As curvas analíticas foram obtidas por adições sucessivas de alíquotas da solução estoque de 25H-NBOH ou 25B-NBOH em célula contendo $2,0 \text{ mL}$ de tampão

BR (pH 8,0) com a concentração das drogas variando de 0 a 800 ng mL⁻¹ com incrementos de 100 ng mL⁻¹. Voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos para cada alíquota, todas as medidas foram realizadas em triplicata para cada concentração.

4.4.2.4. Preparo das amostras de urina sintética

Para simular uma amostra biológica, foi preparada uma solução de urina sintética contendo: CaCl₂.2H₂O (0,110 g), NaCl (0,293 g), Na₂SO₄ (0,225 g), KH₂PO₄ (0,140 g), KCl (0,106 g), NH₄Cl (0,100 g) e ureia (2.500 g) em 100 mL de água ultrapura. A solução foi submetida ao ultrassom por 10 minutos para dissolver os sais, o pH da solução foi ajustado para 6,0 com NaOH 2,0 mol L⁻¹ e finalmente armazenada sob refrigeração.[79]

Uma alíquota de 10 µL urina sintética foi diluída diretamente na célula eletroquímica contendo 2,0 mL de solução tampão BR (pH 8,0). A amostra foi enriquecida com 25H-NBOH ou 25B-NBOH para simular uma amostra biológica de urina contaminada com as drogas.[78,80]

4.4.2.5. Preparo dos selos sintéticos de 25H-NBOH e 25B-NBOH

Os selos sintéticos de 25H-NBOH e 25B-NBOH foram produzidos usando papel mata borrão nas concentrações de 25 e 100 µg por selo. Inicialmente ao papel mata borrão foi impresso uma ilustração, os selos foram cortados no tamanho de aproximadamente 1x1 cm. Aos selos foi adicionado uma solução 1,0 mg mL⁻¹ até obter a concentração desejada das drogas por selo.

4.4.2.6. Estudo de adição e recuperação empregando adição de padrão para 25H-NBOH e 25B-NBOH em amostras de urina e selos sintéticos

A exatidão do método foi avaliada pelo método de adição e recuperação, e empregado a calibração por adição de padrão para as drogas na urina e selos sintéticos. Para urina sintética foram utilizados níveis de fortificação de 100 e 400 ng mL⁻¹, já para os selos sintéticos foram utilizados níveis de fortificação de 25 e 100 µg por selo. Para análise, os selos foram extraídos com 1 mL MeOH ou DMSO em um

microtubo tipo eppendorf sob ultrassom por 1 minuto, uma alíquota transferida para célula contendo 2 mL de tampão BR e realizado a leitura em triplicata. Assim, após leitura da amostra, foram realizadas três adições de padrão de 100 ng mL⁻¹ cada, e a concentração da amostra foi obtida por extrapolação da curva de adição de padrão. Também foi calculado o valor de recuperação pela Equação 4.

$$\% \text{Recuperação} = \frac{\text{Valor encontrado na amostra}}{\text{Valor adicionado na amostra}} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização eletroquímica dos eletrodos compósitos

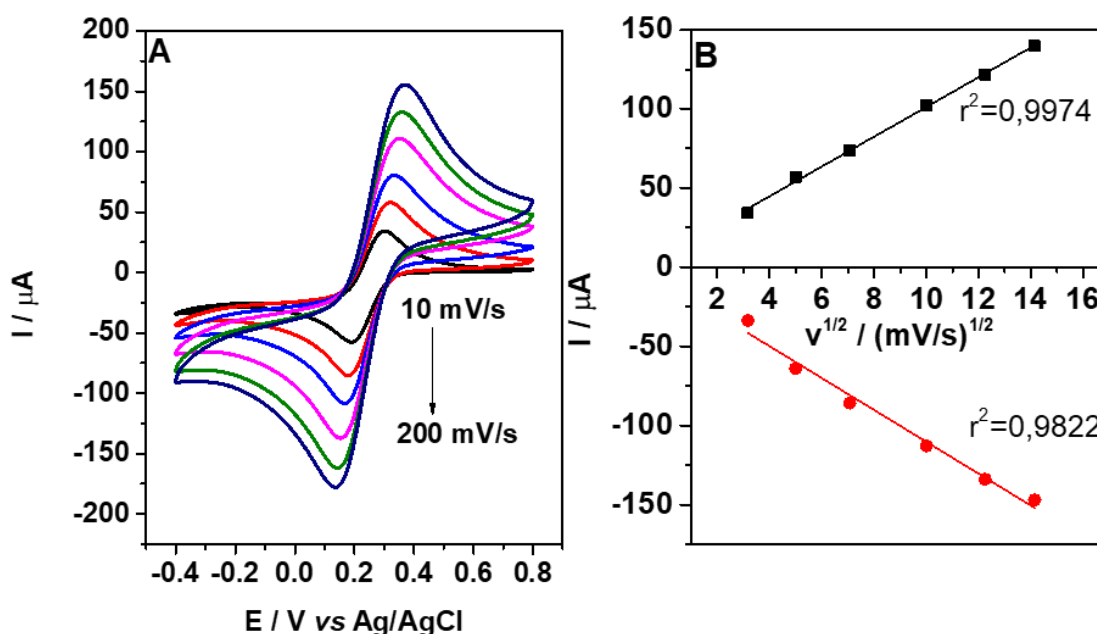
Neste trabalho os eletrodos compósitos utilizados foram fabricados numa proporção de 70:30 de grafite e PCL. Essa proporção ideal foi definida anteriormente em nosso grupo de pesquisa. Proporções de 30, 40, 50, 60, 70 e 80% de grafite foram avaliadas por Silva (2019), chegando à conclusão de que 70% de grafite é composição ideal para confecção dos eletrodos. Além disso, composição com maior concentração de grafite levou à formação de compósito muito rígido, dificultando as etapas de limpeza mecânica do eletrodo.[10,65]

A voltametria cíclica foi empregada para investigar o desempenho eletroquímico e determinar a área eletroativa do EC usando uma sonda de $5,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ como eletrólito suporte, na janela de potencial de -0,4 a 0,8 V e velocidades de varredura de 10 a 200 mV s^{-1} . Intensidade de corrente de pico e simetria de pico relacionada ao processo redox reversível $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + 1e^- \rightleftharpoons \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ foram observadas (Figura 10).

Na Figura 10A pode ser observado um aumento na intensidade das correntes de pico anódicas e catódicas com o aumento da velocidade de varredura. Já na Figura 10B está representada a correlação entre as correntes de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura, o sinal positivo ou negativo é usado para representação dos processos de oxidação e redução, representados em vermelho e preto, respectivamente.

Verificou-se uma correlação linear entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura ($r^2 > 0,98$), indicando transporte de massa controlado por difusão, em acordo com a equação de Randles-Sevick (Equação 3).

Figura 10. Voltamogramas cíclicos para 5,0mmolL⁻¹ [Fe(CN)₆]^{-4/3-} em solução 0,5 mol L⁻¹ KCl para EC. (A) Velocidades: 10, 25, 50, 75, 100, 150 e 200 mV s⁻¹. (B) Gráficos de I_p vs v^{1/2} para: corrente de pico anódica (■) e catódica (●).



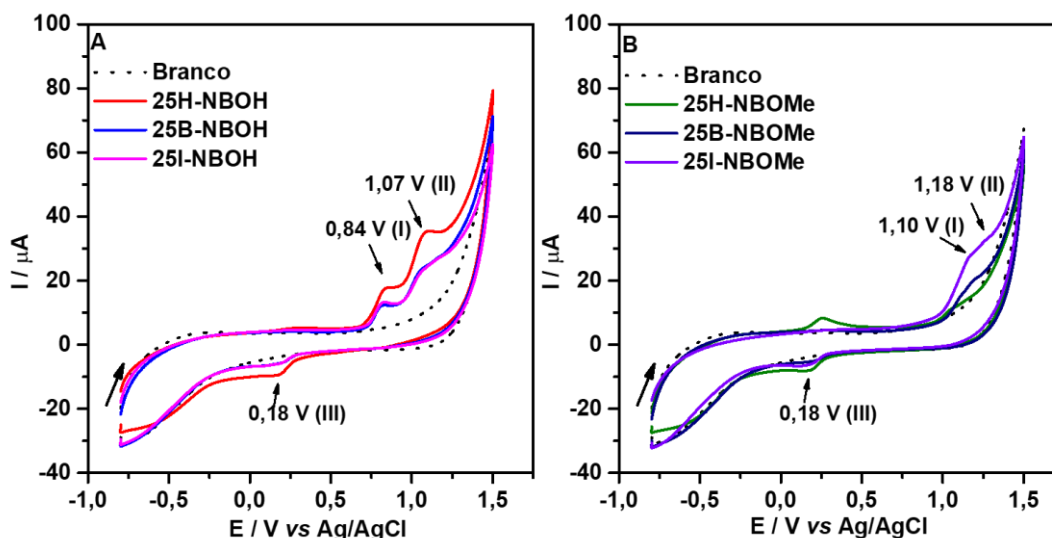
A partir desse experimento, também foi possível calcular a área eletroativa do EC utilizando a equação de Randles-Sevcik. A área encontrada foi de 0,081 cm², representando 41% da área geométrica do eletrodo (0,2 cm²). Esse resultado foi menor que o encontrado na literatura, o que foi atribuído ao maior tamanho de partícula do grafite utilizado.[10]

5.2. Comportamento eletroquímica das 25X-NBOH e 25X-NBOMe

Inicialmente a VC foi utilizada para verificar o comportamento eletroquímico de seis substâncias da classe NBOH e NBOMe, sendo elas: 25H-NBOH, 25B-NBOH, 25I-NBOH, 25H-NBOMe, 25B-NBOMe e 25I-NBOMe.

Os voltamogramas foram obtidos utilizando uma solução contendo 25 μg mL⁻¹ das drogas na janela de potencial de -1,0 a 1,5 V e velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Tampão BR foi selecionado como eletrólito de suporte após verificar outros trabalhos com drogas dessas classes na literatura, sendo os estudos iniciais realizados em pH ácido (pH 4) (Figura 11).

Figura 11. Voltamogramas cíclicos no eletrodo compósito em soluções tampão Britton-Robinson (pH 4,0) e após adição de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ de (A) 25X-NBOH (X = H, Br e I), e (B) 25X-NBOMe (X = H, Br e I). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .



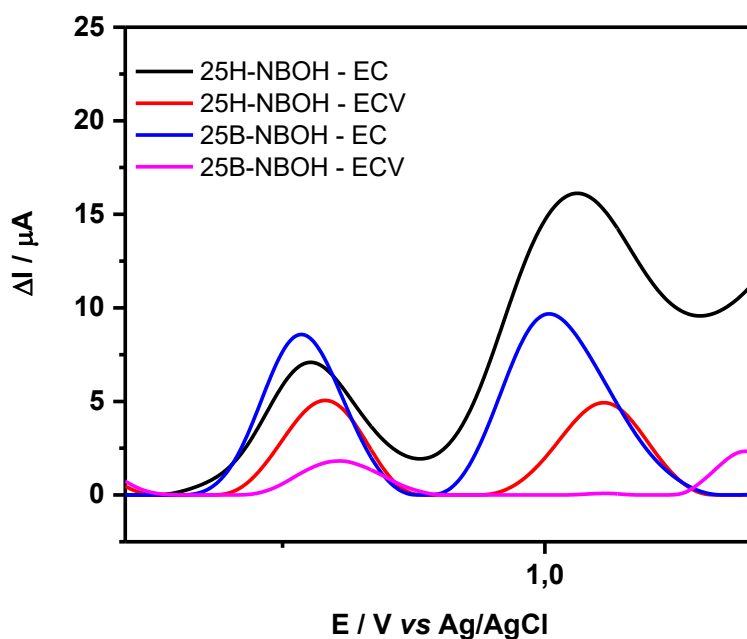
Para as NBOHs, Figura 11A, foi observado perfis voltamétricos semelhantes, apresentado dois picos de oxidação, um em aproximadamente 0,84 V e o segundo em 1,07 V, e um pico de redução em 0,18V. Já o perfil voltamétrico para as NBOMes, Figura 11B, diferenciou-se das NBOHs, apresentado dois picos de oxidação entre 1,10 e 1,18 V, além de um pico de redução em 0,18 V.

Diante dos resultados preliminares concluiu-se que seria difícil trabalhar como determinação simultânea das drogas, visto que apresentam perfis voltamétricos semelhantes, desta forma escolheu-se as drogas 25H-NBOH e 25B-NBOH para continuar os estudos de determinação e quantificação independentes. As mesmas foram selecionadas por serem as únicas que não possuíam nenhum tipo de estudo eletroquímico descrito na literatura.

Voltametria de pulso diferencial foi utilizada para comparar a sensibilidade do EC frente ao eletrodo de carbono vítreo (ECV) para 25H-NBOH e 25B-NBOH. Como pode ser observado na Figura 12, a corrente de pico para ambas as substâncias foi maior quando utilizado eletrodo compósito. Além disso, utilizar o ECV mostrou-se desafiador devido à dificuldade para limpeza de sua superfície após cada varredura, sendo necessário polimento utilizando suspensão de diamante para retirar as substâncias adsorvidas na superfície, por outro lado, a limpeza da superfície do EC pode ser feita de forma rápida utilizando uma lixa d'água com granulometria 3000.

Desta forma, o uso do EC como eletrodo de trabalho para análise de 25H-NBOH e 25B-NBOH apresentou vantagem de ser mais sensível, além de ser mais fácil a renovação de sua superfície.

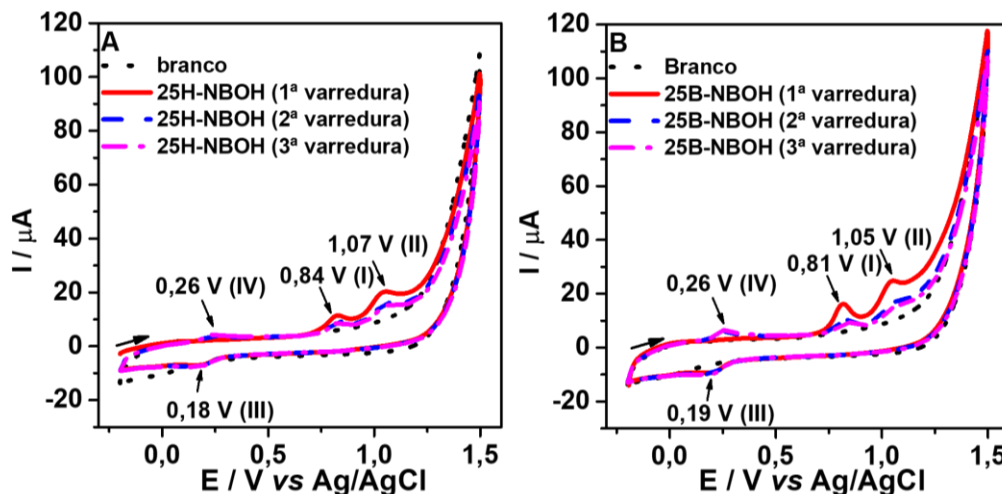
Figura 12. Comparação da resposta das drogas 25H-NBOH e 25B-NBOH $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ utilizando os EC e ECV em tampão Britton-Robinson (pH 4,0).



5.3. Estudo do mecanismo de oxidação eletroquímica para 25H-NBOH e 25B-NBOH

Para propor um mecanismo de oxidação eletroquímica para 25H-NBOH e 25B-NBOH na superfície de EC, foram obtidos novos voltamogramas cíclicos diminuindo a janela de potencial iniciando em $-0,2 \text{ V}$ até $1,50 \text{ V}$, para evitar redução e oxigênio e formação de peróxido, realizando três varreduras sucessivas, sem limpar a superfície do eletrodo entre cada varredura (Figura 13). A redução de oxigênio à peróxido ocorre em potencial próximo a $-0,4 \text{ V}$, [81] na Figura 11 não foi observado um pico pronunciado desta reação, mas ao comparar com os voltamogramas da Figura 13 nota-se uma linha base melhor definida na região próximo ao início da janela, mostrando que o alargamento do voltamograma na região próximo a $-0,4 \text{ V}$ pode ser resultado da redução de oxigênio.

Figura 13. Voltamogramas cíclicos utilizando o eletrodo compósito em soluções tampão BR (pH 4,0) e após adição de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ de (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



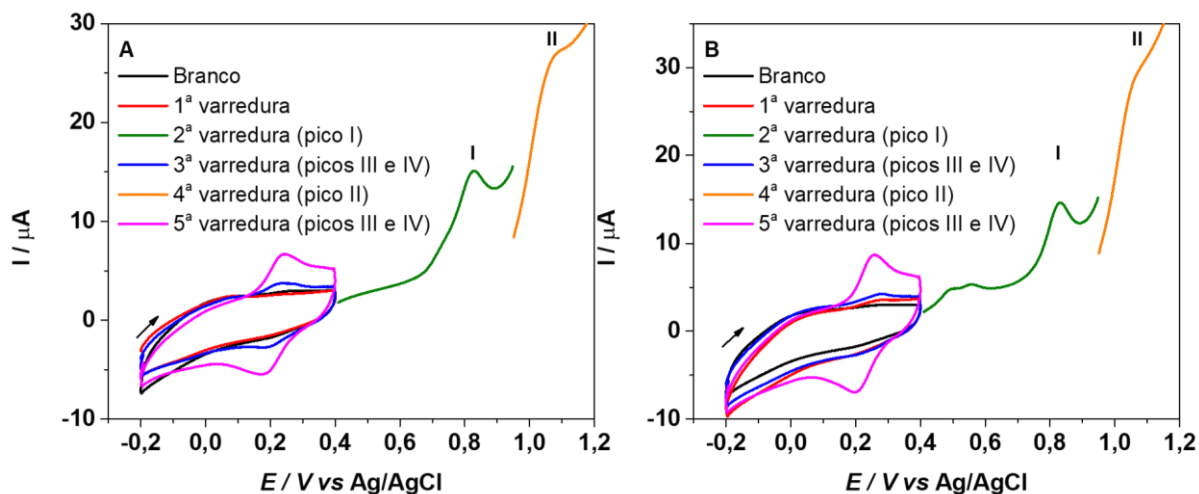
Como pode ser visto na Figura 13 as duas substâncias apresentaram comportamento voltamétrico semelhante na superfície do EC. Na primeira varredura para o 25H-NBOH é possível observar dois picos de oxidação irreversíveis, em 0,84 V (pico I) e em 1,07 V (pico II), e para o 25B-NBOH, a primeira varredura mostrou um pico de oxidação em 0,81 V (pico I) e em 1,05 V (pico II), também irreversíveis.

A diferença entre o potencial de pico e o potencial de meia altura ($E_p - E_{p/2}$) para os picos anódicos I e II da 25H-NBOH foi de 38 mV e 42 mV, respectivamente. Para 25B-NBOH os valores foram de 36 mV para o pico I e 41 mV para o pico II. Os valores do potencial de meia altura são inferiores a 56,5 mV (valor característico para transferência reversível monoelétrica) [28], indicando que cada processo envolve a transferência de dois elétrons e dois prótons ($2e^-/2H^+$), conforme já relatado na literatura.[71]

Além dos picos de oxidação, ambas apresentaram pico de redução, em 0,18 V e 0,19 V para o 25H-NBOH e 25B-NBOH, respectivamente. Na segunda varredura, para ambas as drogas, foi observado a presença de pico de oxidação em 0,26 V (pico IV). O pico IV não foi detectado na primeira varredura, indicando que a espécie responsável pelo mesmo foi gerada em solução durante a primeira varredura.

O produto de oxidação observado na segunda varredura (pico IV) foi avaliado realizando experimentos de VC em uma janela de potencial de -0,2 V a 1,5 V, e os voltamogramas são apresentados na Figura 15.

Figura 14. Voltamogramas cíclicos e partes de voltamogramas cíclicos de (A) 25H-NBOH 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e (B) 25B-NBOH 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em tampão BR pH 4,0. Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

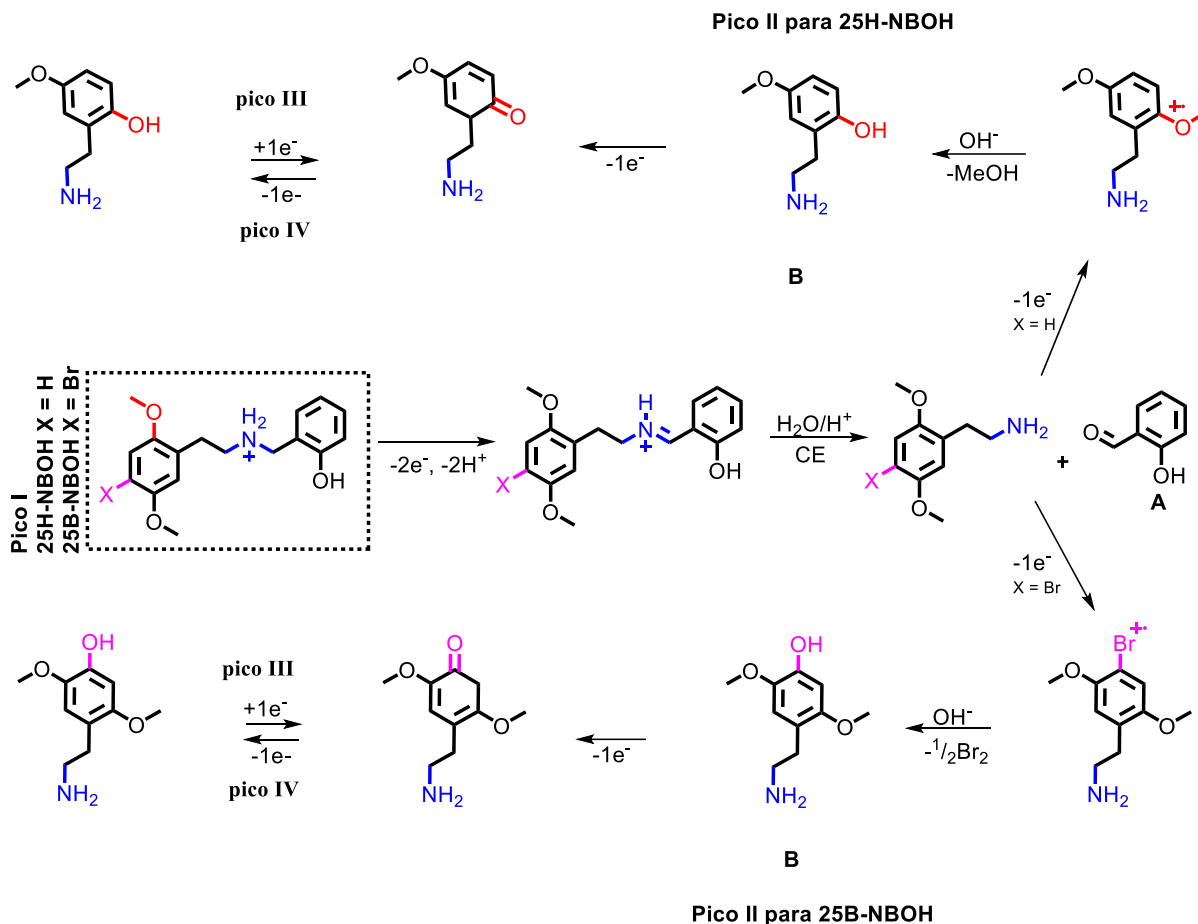


Inicialmente foi realizada uma varredura na janela de potencial de -0,2 – 0,4 V (região correspondente aos picos III e IV – Figura 14: linha vermelha), e não foi observado nenhum pico. Em seguida foi feita uma varredura na janela de 0,4 – 0,95 V (região corresponde ao pico I – Figura 14: linha verde), e posteriormente uma nova varredura na janela A (Figura 14: linha azul), sendo observado o surgimento dos picos III e IV. O procedimento foi repetido, e não foi observado aumento significativo da intensidade dos picos III e IV.

Ao varrer na janela de 0,95 – 1,5 V (região correspondente ao pico II – Figura 14: linha amarela), e posteriormente uma varredura na janela A (Figura 14: linha rosa), foi observado um aumento significativo dos picos III e IV. Isto demonstrou que estes processos estão diretamente relacionados aos processos de oxidação que ocorrem em potenciais mais elevados (picos I e II), com maior dependência do pico II.

Com base nos resultados apresentados e comparação com a literatura, foram propostos mecanismos para oxidação de 25H-NBOH e 25B-NBOH, como mostrado no Esquema 2. Na literatura existem propostas de mecanismos para oxidação de outras drogas halogenadas, o que facilitou propor um mecanismo para 25B-NBOH.

Esquema 2. Proposta de mecanismo para oxidação de 25H-NBOH e 25B-NBOH em meio ácido (pH 4.0)



Em acordo com dados previamente publicados [73,82], o primeiro pico de oxidação (pico I) para 25H-NBOH e 25B-NBOH foi atribuído à oxidação da amina secundária, envolvendo a remoção de dois elétrons e dois prótons do átomo de amino-nitrogênio, levando a uma *N*-desalquilação, dando origem a uma amina primária e à formação de salicilaldeído, representado como A no Esquema 2.

Para 25B-NBOH, o pico II foi atribuído à substituição de bromo; esta reação também envolve uma transferência de dois elétrons, inicialmente ocorre uma transferência de elétrons do bromo para o eletrodo, resultando em um radical cationico, que sofre uma ligação nucleofílica para formar o intermediário B. O segundo elétron envolvido na reação é transferido na oxidação de fenol em carbonílica (Esquema 2). A literatura reporta os mecanismos de reação para outras NBOHs e NBOMes halogenados, como 25B-NBOMe, 25I-NBOMe [71,82], 25C-NBOMe [71] e 25I-NBOH [83].

Para 25H-NBOH sugere-se que o pico II também é resultado da oxidação do anel aromático, porém por outro mecanismo, pelo qual ocorre primeiro uma substituição do grupo metoxila por hidroxila, seguida de oxidação à cetona (Esquema 2), reação semelhante já foi descrito para a oxidação de anisol e 1,4-dimetoxibenzenos a derivados de quinona. [84,85] Em seguida, o intermediário cetona formado na oxidação de ambas as drogas sofre uma redução, indicada pelo pico III, que é oxidado em torno de +0,26 V (pico IV) levando a um equilíbrio ceto/enol reversível ou quase reversível ($E_{pa} - E_{pc} = 63 \text{ mV}$, $I_{pa}/I_{pc} = 1,19$).[71]

Como pode ser observado na Figura 14 (linha azul), foi observado os picos III e IV com baixa corrente de pico, após varredura na região do pico I. Considerando que foi atribuído ao pico I a oxidação da amina levando como um dos produtos da oxidação o salicilaldeído (A), o aparecimento do picos III e IV com baixa intensidade pode ser resultado da oxidação do salicilaldeído, que apresenta também o grupo fenol.

Souza et al. (2018) [71] descrevem um mecanismo para 25X-NBOMe (X = Cl, Br e I) semelhante ao proposto neste trabalho, porém atribuem o pico de menor potencial à substituição do haleto para formação do tipo intermediário tipo quinona, enquanto o pico em potencial mais alto é atribuído à oxidação da amina secundária. Diferentemente do que já foi publicado, os dados aqui apresentados demonstraram que o processo reversível referente aos picos III e IV, são atribuídos ao equilíbrio ceto/enol, e dependem do processo de oxidação que ocorre no pico II, portanto a substituição do bromo seguida da formação da cetona deve ocorrer no potencial do pico II.

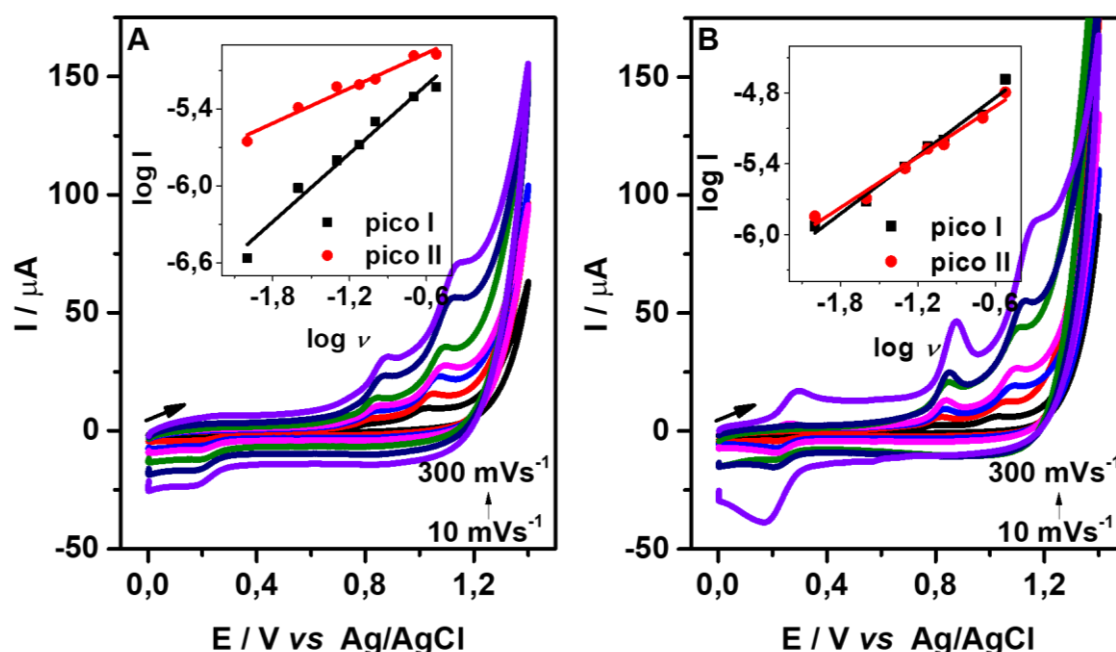
Os picos observados para ambas as drogas apresentam potenciais muito próximos, desta forma não seria possível a identificação e quantificação simultânea. Desta forma, o pico I, por apresentar maior intensidade de corrente de pico, foi escolhido para desenvolvimento do método analítico.

5.4. Desenvolvimento do método voltamétrico

5.4.1. Influência da velocidade de varredura

Foi utilizada a voltametria cíclica para avaliar a natureza do transporte de massa dos analitos para a superfície do eletrodo, utilizando uma solução $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ das drogas em tampão BR pH 4,0. Para isso, a velocidade de varredura foi variada na faixa de 10 mV – 300 mV em uma janela de potencial de -0,8 V – 1,5 V, realizando o polimento do eletrodo entre as varreduras para evitar possíveis problemas de adsorção em sua superfície, e os voltamogramas cíclicos são apresentados na Figura 16.

Figura 15. Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura para (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ em tampão BR pH 4. Inserções: gráficos de $\log I_p$ vs $\log v^{1/2}$.



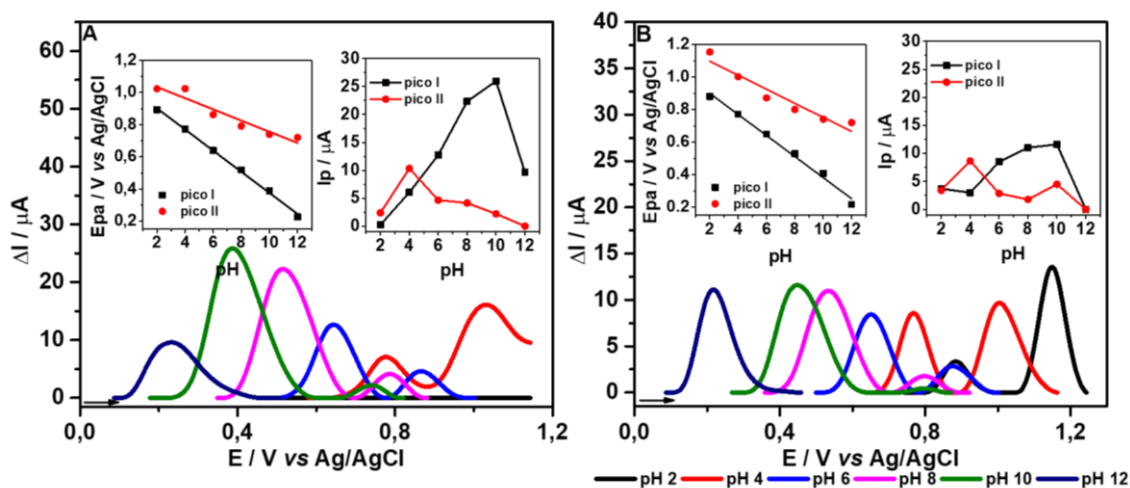
De acordo com a literatura, uma correlação linear com inclinação de 0,5 é esperada para processos governados predominantemente por difusão, enquanto uma inclinação de 1 indica a adsorção de espécies na superfície do eletrodo, e valores intermediários indicam a contribuição de ambos os processos.[33,86,87] Para os picos I e II, foi obtida uma relação linear entre o logaritmo da corrente de pico ($\log I_p$) versus

o logaritmo da velocidade de varredura ($\log v$), como demonstrado nos *insets* da Figura 15. Os coeficientes angulares das retas calculados para os picos I e II da 25H-NBOH foram de 0,89 ($\log I = -4,678 + 0,889 \log v$, $r^2 = 0,970$) e 0,45 ($\log I = -4,691 + 0,455 \log v$, $r^2 = 0,964$), respectivamente. Esses valores sugerem que os processos de oxidação são predominantemente influenciados pelos dois processos adsorção e difusão, respectivamente. Para o 25B-NBOH, foram obtidas inclinações de 0,82 ($\log I = -4,345 + 0,821 \log v$, $r^2 = 0,977$) e 0,71 ($\log I = -4,485 + 0,714 \log v$, $r^2 = 0,977$) para os picos I e II, respectivamente, sugerindo um processo misto de difusão-adsorção para ambos os picos.

5.4.2. Influência do pH do eletrólito de suporte no perfil voltamétrico das drogas

A VPD foi utilizada para avaliar a influência do pH nos valores de potencial e corrente observados para o pico I referente à oxidação da amina secundária presente em 25H-NBOH e 25B-NBOH em Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em uma faixa de pH de 2 a 12, e os voltamogramas de pulso diferencial são apresentados na Figura 17.

Figura 16. Voltamogramas VPD em vários níveis de pH de uma solução contendo $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH (Inserções: dependência do potencial de pico e corrente de pico dependência com o pH) em tampão BR.



Como pode ser observado Figura 16, existe uma dependência entre o valor do pH e o potencial de oxidação das drogas, bem como com a intensidade da corrente.

Em relação a intensidade do pico I observa-se um aumento da corrente até o valor de pH 10, diminuindo em pH 12. Já para a dependência do potencial em função do pH ($r^2 = 0,997$ para 25H-NBOH e $r^2 = 0,989$ para 25B-NBOH), observa-se um deslocamento para potenciais menos positivos com o aumento do pH, indicando a presença de equilíbrio ácido-base e a participação de prótons no processo de oxidação. [86,87] O deslocamento também pode estar associado ao maior grau de protonação dessas moléculas em meio ácido, uma vez que 25B-NBOH e 25H-NBOH possuem valores de pK_a estimados de 10,37 e 10,38, respectivamente (dados do banco de dados SciFinder). Para o pico II também foi um deslocamento dos picos para potenciais menos positivos com aumento do pH, entretanto essa resposta não foi linear conforme observado para o pico I, para pico II foram obtidos valores de r^2 de 0,902 e 0,907 para 25H-NBOH e 25B-NBOH, respectivamente.

O gráfico de E_{pa} versus pH *inset* da Figura 16, revela uma inclinação de -67 mV/pH (pico I) e -34 mV/pH (pico II) para 25H-NBOH e -65 mV/pH e -43 mV/pH para 25B-NBOH, indicando que para ambas as drogas o efeito do pH é mais pronunciado para o pico I, corroborando a atribuição do pico I ao processo de oxidação da amina secundária.

Os *insets* da Figura 16 mostra a relação E_p versus pH, que apresentou uma inclinação de -67 mV/pH para 25H-NBOH e -65 mV/pH para 25B-NBOH, sugerindo, de acordo com a literatura,[35] que a eletro-oxidação envolve o mesmo número de prótons e elétrons ($2H^+/2e^-$), o que corrobora o mecanismo apresentado no Esquema 2. Essa dependência do potencial com pH e relação entre número de prótons e elétrons pode ser retirado da equação de Nernst apresentada abaixo, desenvolvida para um sistema em que prótons participam da oxidação ($Ox + ne^- + mH^+ \rightarrow Red$):

$$E = E^0 - \frac{0,0593}{n} \times \left(\log \frac{[Red]}{[Ox]} \right) - \frac{0,0593}{n} \times m \times pH \quad \text{Equação 5}$$

onde n é o número de elétrons, m o número de mol de H^+ . Como pode ser observado para a equação acima, para uma oxidação que envolve o mesmo número de prótons e elétrons ($m/n = 1$), o valor de potencial varia 0,0593 V por unidade de pH, valor próximo do obtido para o pico I para ambas as drogas (-67 mV/pH para 25H-NBOH e -65 mV/pH para 25B-NBOH). Já os valores de inclinação do pico II de -34

mV/pH para 25H-NBOH e -43 mV/pH para 25B-NBOH indicam uma proporção entre prótons e elétrons próximo a 0,5, indicando que a quantidade de elétrons envolvidos na oxidação do pico II é o dobro do número de prótons ($1\text{H}^+/2\text{e}^-$), conforme ilustrado no mecanismo do Esquema 2.

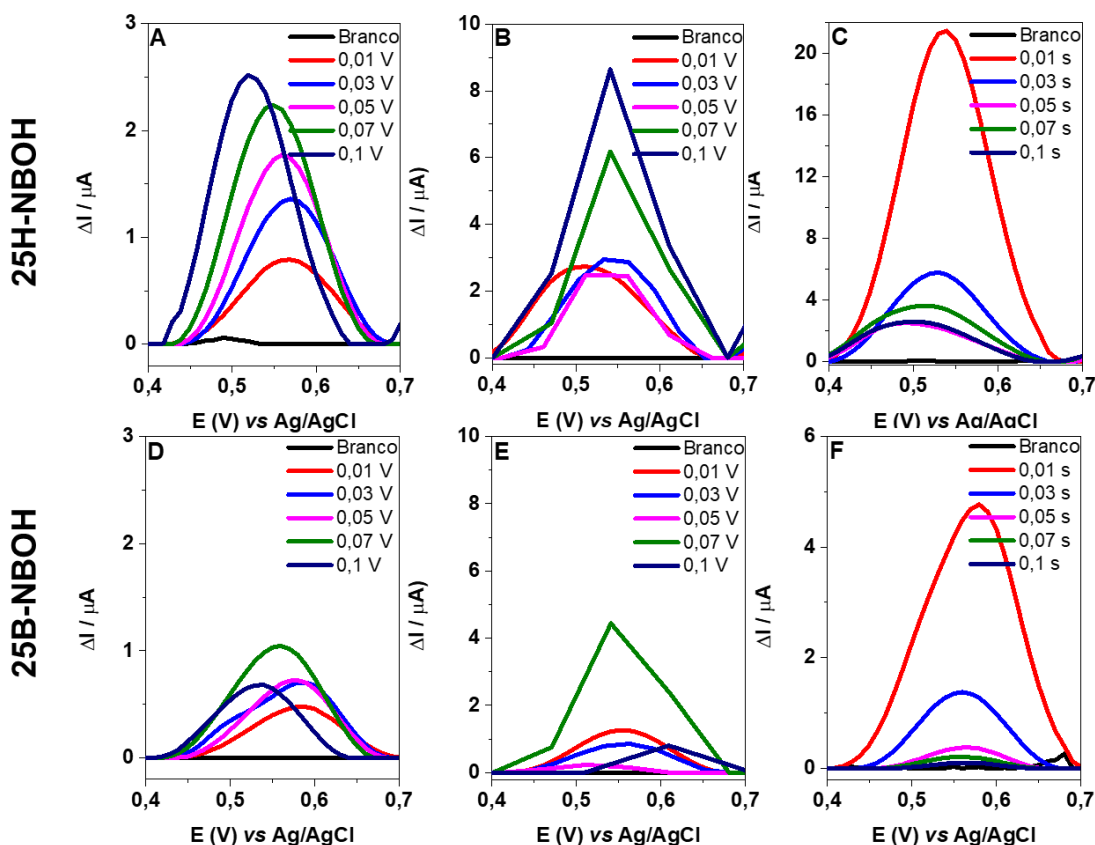
Para prosseguir com os experimentos analíticos, o pH 8,0 foi escolhido como ideal por apresentar um valor de corrente de pico apreciável e para evitar possíveis danos ao eletrodo em pH muito básico.

5.4.3. Otimização dos parâmetros da VPD

Alguns parâmetros experimentais da VPD foram investigados visando a otimização dos mesmos para a detecção das drogas. Foram avaliados diferentes valores de incremento de potencial (IP), amplitude de pulso (ΔE), tempo de modulação (TM) e tempo de pré-concentração (TPC) em tampão BR 0,1 molL⁻¹ pH 8 (

Figura 17).

Figura 17. Voltamogramas de pulso diferencial variando os principais parâmetros da técnica de VPD. (A,D) – amplitude de pulso com IP = 0,01 V e TM = 0,05 s; (B,E) – incremento de potencial com $\Delta E = 0,07$ V e TM = 0,05 s; (C,F) – tempo de modulação com $\Delta E = 0,07$ V e IP = 0,01 V s. Tampão BR 0,1 molL⁻¹, pH 8.



De acordo com os voltamogramas de pulso diferencial apresentados na

Figura 17A e D, o primeiro parâmetro avaliado foi amplitude de pulso. Na técnica de pulso diferencial a corrente é medida duas vezes, uma antes da aplicação do pulso e outra ao final do pulso, sendo a diferença em potencial entre essas duas medidas, a amplitude de pulso.

Como pode ser observado na

Figura 17A, a intensidade da corrente tem um aumento considerável para 25H-NBOH com o aumento de ΔE , enquanto para 25B-NBOH foi observado um pequeno aumento na corrente. A corrente de pico observada para 25B-NBOH foi menor que para 25H-NBOH para todos os valores de amplitude testados, desta forma foi escolhido como parâmetro ótimo a amplitude de 0,07 V, por ser a que 25B-NBOH apresentou maior corrente de pico. Vale ressaltar que apesar da corrente de pico ser a mais intensa para ΔE de 0,1V para a 25H-NBOH, observa-se um deslocamento do E_p , como também uma assimetria na base do pico.

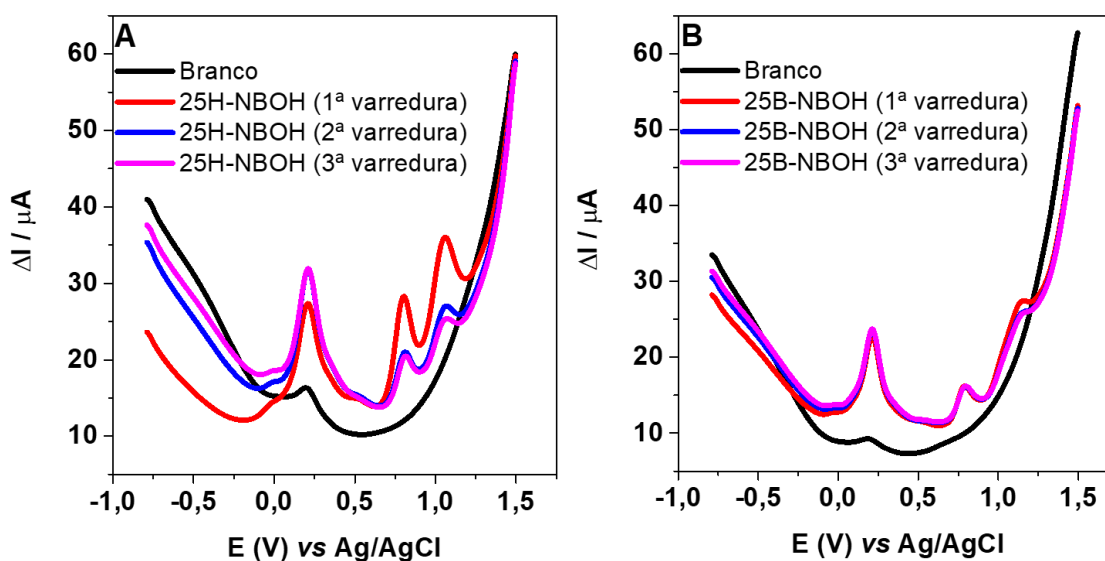
O segundo parâmetro avaliado foi o incremento de potencial, como pode ser observado nos voltamogramas de pulso diferencial das

Figura 17B e E. Valores altos de incremento levaram a voltamogramas de baixa definição, sendo o valor de 0,01 V o que apresentou melhor definição, e um pico mais simétrico. Já o melhor tempo de pulso para ambas as drogas foi 0,01 s, sendo observada um aumento considerável na corrente do pico I (

Figura 17B e E), sendo inicialmente escolhido como valor ótimo. Entretanto, ao tentar construir uma curva analítica, foi observado que após uma leitura no analito, passou a aparecer um pequeno sinal no branco na região do pico analisado. Desta forma foram feitas novas medidas, sendo o valor de tempo de pulso que fez o sinal desaparecer foi de 0,05 s.

A Figura 18 mostra três voltamogramas de pulso diferencial registrados na sequência para as drogas.

Figura 18. Voltamogramas VPD para (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 8. Parâmetros DPV: IP $0,01 \text{ V}$, ΔE $0,07 \text{ V}$, TM $0,05 \text{ s}$.

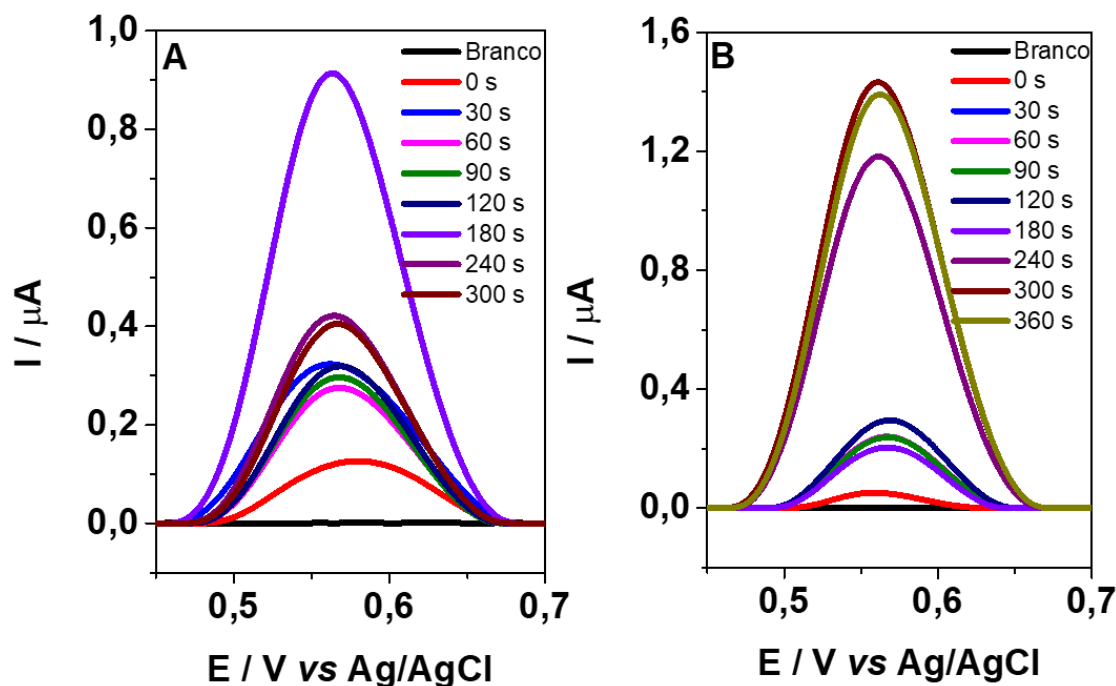


Podemos verificar uma diminuição na corrente dos picos I e II a partir da segunda varredura para a 25H-NBOH (Figura 18), o que evidencia um processo de adsorção no EC.

Eletrodos à base de carbono têm forte tendência a adsorver moléculas orgânicas e esta adsorção pode contribuir para diminuir a sensibilidade do método. Conforme observado anteriormente no estudo da influência da velocidade de varredura, o processo de transporte de massa na superfície do eletrodo para os dois analitos envolve um mecanismo misto de adsorção e difusão, que para a 25H-NBOH é mais evidenciado. Buscando aproveitar esse processo de adsorção, foi realizado um estudo de pré-concentração sob agitação em potencial de circuito aberto, sendo a solução contendo o analito agitada por tempos que variaram de 0 s a 360 s antes de cada varredura, buscando promover o máximo de absorção de moléculas na superfície do eletrodo antes de cada medida.

Na Figura 20 são apresentados os voltamogramas de pulso diferencial para as drogas empregando uma etapa de pré-concentração variando o tempo.

Figura 19. Voltamogramas de pulso diferencial para (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 8 obtidos após diferentes tempos de agitação em potencial de circuito aberto. Parâmetros DPV: IP $0,01 \text{ V}$, ΔE $0,07 \text{ V}$, TM $0,05 \text{ s}$.



Os resultados da figura 20 demonstram que o tempo de pré-concentração ideal para cada droga foi de 180 s e 300 s para 25H-NBOH e 25B-NBOH, respectivamente. Os resultados revelaram que o tempo de pré-concentração utilizado foi significativo para o aumento da intensidade da corrente de pico para ambos as drogas, contribuindo para um aumento na sensibilidade do método proposto. Com isso foi possível construir as curvas analíticas sem necessidade de polir a superfície do eletrodo entre cada medida.

Na Tabela 2 são apresentados os parâmetros avaliados da técnica e os valores ótimos alcançados com o estudo.

Tabela 3. Parâmetros da VPD avaliados e escolhidos para otimização do método.

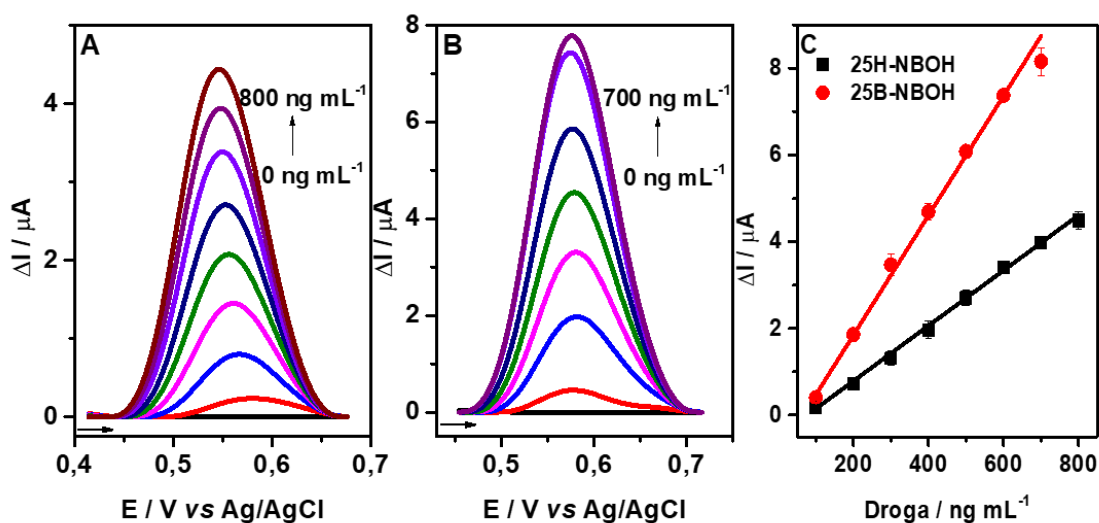
Parâmetros	Faixa avaliada	Valor ótimo
pH do eletrólito de suporte	2,0 – 12,0	8,0
Incremento de potencial / V	0,01 – 0,1	0,01
Amplitude de pulso / V	0,01 – 0,1	0,07
Tempo de modulação / s	0,01 – 0,1	0,05
Tempo de pré concentração/ s	0 – 360	180 s (25H-NBOH) 300 s (25B-NBOH)

5.4.4. Curvas analíticas para 25H-NBOH e 25B-NBOH

Após a otimização dos parâmetros da VPD e do pH do eletrólito suporte foram obtidas curvas analíticas individuais para cada droga, uma vez que as duas substâncias apresentam respostas voltamétricas em potenciais próximos.

Para obtenção das duas curvas analíticas, ambas em triplicata, foram realizadas adições sucessivas dos analitos com concentrações variando de 100 – 800 ng mL⁻¹ na célula eletroquímica, sendo cada incremento de 100 ng mL⁻¹. As curvas analíticas são apresentadas na Figura 21.

Figura 20. Voltamogramas VPD (linha de base corrigida) para (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH. (C) Concentrações versus correntes de pico obtidas do VPD. Tempo de pré-concentração de 180 s para 25H-NBOH e 300 s para 25B-NBOH.



Como pode ser observado na Figura 20 uma ótima relação linear ($r^2 = 0,999$) entre corrente de pico e concentração foi obtida tanto para 25H-NBOH quanto para 25B-NBOH, entretanto a faixa linear para 25B-NBOH foi menor, sendo de 100 – 700 ng mL⁻¹. Os resultados e respectivas equações lineares estão mostradas na Tabela 4.

O limite de detecção instrumental, definido como a menor concentração do analito que o método analítico pode detectar de forma segura e o limite de quantificação, que é a menor concentração que pode ser quantificada foram calculados por meio das equações Equação 6 e Equação 7.

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{S} \quad \text{Equação 6}$$

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{S} \quad \text{Equação 7}$$

onde σ refere-se ao desvio padrão das medidas da menor concentração da curva analítica e S é a inclinação da curva. Os valores de LD e LQ foram de 19 e 64 ng mL⁻¹ para 25H-NBOH, enquanto para 25B-NBOH os valores foram 23 e 76 ng mL⁻¹, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de 25H-NBOH e 25B-NBOH usando a VPD.

	25H-NBOH	25B-NBOH
Equação da reta	$y = -4,877 \times 10^{-7} + 6,377 \times 10^{-9}x$	$y = -9,122 \times 10^{-7} + 1,380 \times 10^{-8}x$
Coefficiente de correlação (r^2)	0.999	0.999
Erro padrão da interseção	$0,387 \times 10^{-7}$	$1,131 \times 10^{-7}$
Erro padrão da inclinação	$0,086 \times 10^{-9}$	$0,028 \times 10^{-9}$
Faixa linear / ng ml-1	100 - 800	100 - 700
LD / ng mL ⁻¹	19	23
LQ / ng mL ⁻¹	64	76

Até o momento, métodos eletroanalíticos para determinação de 25H-NBOH e 25B-NBOH não foram descritos na literatura, porém, o método aqui proposto apresenta valores de LD de 19 e 23 ng mL⁻¹, que estão dentro da faixa encontrada na literatura (LD variando de 4 a 385 ng mL⁻¹) para outras drogas da mesma classe. Além

disso, os valores de LQ de 64 e 76 ng mL⁻¹ são os melhores relatados até o momento quando comparados a outros métodos eletroquímicos (LQ de 120 a 1280 ng mL⁻¹) utilizando diferentes sensores para a determinação de drogas da mesma classe.[82,83,88]

5.4.5. Repetibilidade e precisão intermediária na análise de 25H-NBOH e 25B-NBOH

Para avaliar a precisão de um método analítico devem ser realizados ensaios de repetibilidade e precisão intermediária, além da reprodutibilidade. A repetibilidade mostra a variação dos resultados sob as mesmas condições de trabalho dentro de um curto intervalo de tempo, também pode ser encontrada como precisão intradia. Já a precisão intermediária avalia a influência de efeitos aleatórios como diferentes dias, analistas ou equipamentos, neste trabalho avaliamos medidas em dias diferentes (precisão inter-dias), pelo mesmo analista no mesmo equipamento. Por fim, a reprodutibilidade trata-se da precisão inter-laboratorial, que não é requerida para validação analítica, mas deve ser considerada para padronização de procedimentos.

A repetibilidade e a precisão intermediária do método proposto foram investigadas considerando o pico I em diferentes concentrações dos analitos e expressa em termos do Desvio Padrão Relativo (%DPR). Para determinação da repetibilidade, três níveis de concentração (200, 400 e 600 ng mL⁻¹) para 25H-NBOH e 25B-NBOH (n = 6) foram avaliados nas condições ideais estabelecidas, e os resultados apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros de repetibilidade e precisão intermediária para o método VPD.

		25H-NBOH	25B-NBOH
Repetibilidade (n = 6) / DPR	200 ng mL ⁻¹	0,86%	1,89%
	400 ng mL ⁻¹	2,04%	1,74%
	600 ng mL ⁻¹	1,92%	3,20%
Precisão intermediária (n = 3) / RSD	200 ng mL ⁻¹	3,39%	3,54%
	400 ng mL ⁻¹	1,78%	1,76%
	600 ng mL ⁻¹	2,28%	1,50%

Como pode ser observado na Tabela 5, foram obtidos valores baixos de %DPR, na faixa de 0,86% – 2,04% para 25H-NBOH e 1,74% – 3,20% para 25B-NBOH.

Para precisão intermediária foram realizadas medidas nas mesmas concentrações anteriores em triplicata e por três dias consecutivos, os valores de %DPR ficaram na faixa de 1,78% – 3,39% para 25H-NBOH e 1,50% – 3,54% para 25B-NBOH.

Os valores de repetibilidade e precisão intermediária com %DPR < 5 mostram que o método atende aos requisitos de precisão.[17,89]

5.5. Aplicação do método analítico para determinação de 25H-NBOH e 25B-NBOH

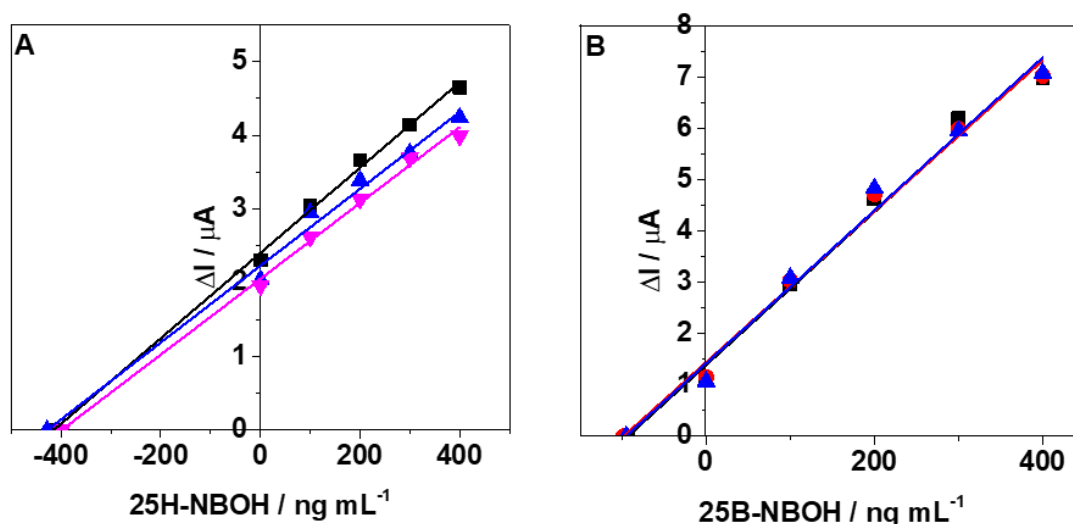
Após a validação do método proposto, o mesmo foi empregado para quantificação de 25H-NBOH e 25B-NBOH. Para isso foram escolhidas duas amostras: urina e selos sintéticos. A escolha das matrizes baseou-se na forma em que as drogas são normalmente comercializadas (selos) e em uma amostra biológica.

Para ambas as matrizes foi utilizado o método de adição de padrão, que consistiu na adição de quatro concentrações conhecidas das drogas à amostra que pretendia-se quantificar, em seguida foi plotado num gráfico a I_p vs. [Droga], no modelo da curva de adição de padrão, e a concentração na amostra calculada a partir de extrapolação da reta.

5.5.1. Quantificação de 25H-NBOH e 25B-NBOH em urina sintética

Uma amostra de urina sintética foi fortificada com concentrações de 100 e 400 ng mL⁻¹ para 25H-NBOH e 25B-NBOH, respectivamente, seguida de sucessivas adições de padrão para obtenção da curva ($n = 4$) apresentada na Figura 21. O EC foi utilizado para a determinação de 25H-NBOH e 25B-NBOH em urina sintética, utilizando as mesmas condições utilizadas para obtenção da curva analítica utilizando a DPV.

Figura 21. Curvas analíticas de adição de padrão para determinação de (A) 25H-NBOH e (B) 25B-NBOH em urina sintética.



As concentrações estimadas de 25H-NBOH e 25B-NBOH na amostra foram calculadas utilizando a curva do método de adição de padrão, sendo as análises realizadas em triplicata (Figura 21), e mostrados na Tabela 6.

Tabela 6. Valores determinados de 25H-NBOH e 25B-NBOH em urina sintética e valores de recuperação.

Analito	Fortificação	VPD	Recuperação
25H-NBOH	400 ng mL ⁻¹	414,00 ± 14.53 ng mL ⁻¹	103,7 ± 3,5 %
25B-NBOH	100 ng mL ⁻¹	95,3 ± 2.5 ng mL ⁻¹	95,3 ± 2,5 %

Os valores de recuperação obtidos, calculados conforme procedimentos recomendados por Eurachem, 2014 [17,89], para as duas substâncias, foram de 103,7% para 25H-NBOH e 95,3% para 25B-NBOH (Tabela 6), e estão dentro da faixa recomendada que é de 80 – 120%.

Após revisão bibliográfica não foram encontrados relatos na literatura da determinação de 25H-NBOH e 25B-NBOH na urina, porém são encontrados relatos de outras fenetilaminas substituídas como 25I-NBOH, 25H-NBOMe, 25C-NBOMe e 25I-NBOMe quantificadas por métodos cromatográficos (Tabela 7).

Tabela 7. Concentrações determinadas em urina para outras drogas da classe NBOH e NBOMe.

Droga	Concentração	Referência
25I-NBOH	1,2 ng mL ⁻¹	[90]
	1 µg L ⁻¹	[91]
25H-NBOMe	0,9 ug L ⁻¹	[92]
	0,14 ng mL ⁻¹	[93]
	1,7 ng mL ⁻¹	[94]
25B-NBOMe	<0,1 a 6.1 ng mL ⁻¹	[95]
	1900 pg ml ⁻¹	[96]
	1900 µg L ⁻¹	[92]
	1,9 ng mL ⁻¹	[97]
	2,93 ug kg ⁻¹	[98]
25C-NBOMe	0,94 ng ml ⁻¹	[93]
	0,7 µg L ⁻¹	[91]
	27,43 ng mL ⁻¹	[99]
25I-NBOMe	2,86 ng mL ⁻¹	[100]
	0,099 ng mL ⁻¹	[101]
	< 1,0 ng mL ⁻¹	[94]
	7,5 µg L ⁻¹	[92]
	28 µg L ⁻¹	[92]
	2 to 36 ng mL ⁻¹	[97]
	7,5 ng mL ⁻¹	[102]

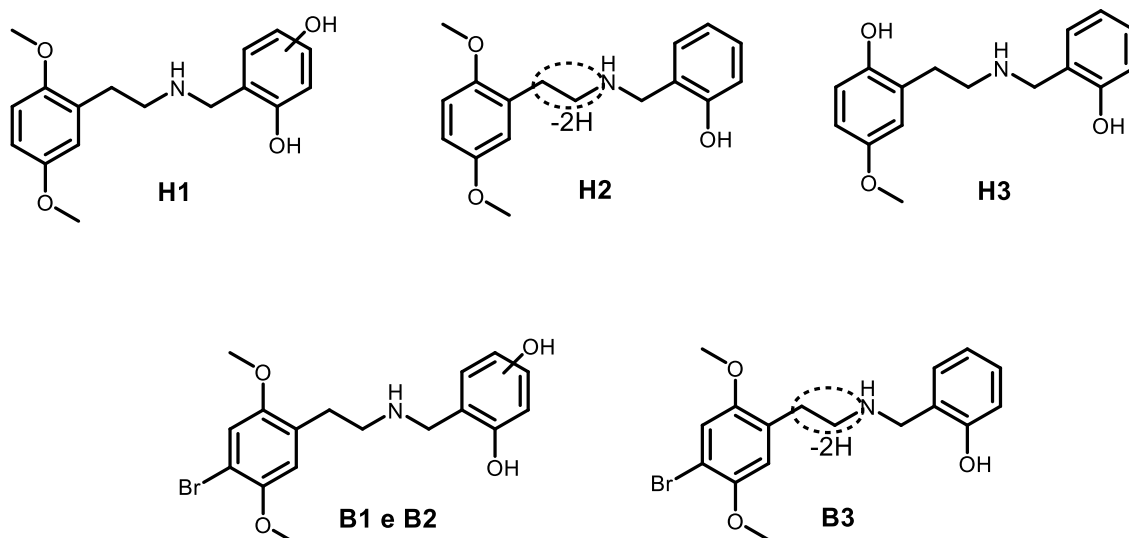
Os valores determinados por métodos cromatográficos em amostras de pacientes em uso dessas drogas variaram de 0,1 ng mL⁻¹ a 1900 ng mL⁻¹, com valores de recuperação de 83% para 25I-NBOMe [21] e 91% para 25H-NBOMe [103], porém é importante ressaltar que esses valores são inferiores aos alcançados com o método eletroquímico proposto neste trabalho.

Como pode ser observado pelos dados apresentados na Tabela 7, que com exceção da 25B-NBOMe que já foi encontrada em urina na concentração de 1900 ng mL⁻¹, os demais casos as concentrações estão acima dos limites de quantificação do método aqui proposto (64 e 76 ng mL⁻¹ para 25H-NBOH e 25B-NBOH, respectivamente). Desta forma, os resultados demonstram que o método pode ser utilizado para quantificação de 25H-NBOH e 25B-NBOH, entretanto, do ponto de vista prático as concentrações comumente encontradas em amostras biológicas estão fora da faixa de utilização do método. Assim, para aplicação do método em amostras reais seria necessárias etapas de concentração do analito.

Como qualquer método, a determinação de 25H-NBOH e 25B-NBOH por VPD com EC, na urina de pessoas que usaram as drogas, pode depender da dose utilizada e do tempo entre o uso e a coleta da amostra. Isso porque por se tratar de amostra biológica, as drogas estão sujeitas ao metabolismo do organismo, diminuindo ainda mais sua concentração final.

Os metabólitos de fase I e II de 25H-NBOH e 25B-NBOH são formados por *O*-desalquilação, hidroxilação, desidrogenação de aminas, oxidação, *N*-dehidroxibenzilação e glucuronidação, isoladamente ou em combinação. Para cada droga, foram identificados tres metabólitos majoritários que podem servir como biomarcadores. Os metabólitos H1 (49,28%), H2 (21,54%), e H3 (18,37%) para 25H-NBOH, e B1 (56,61%), B2 (17,43%) e B3 (17,78%) para 25B-NBOH (Figura 22).[104] Estes metabólitos, além de causarem diminuição da concentração da droga administrada, podem ser possíveis interferentes nas análises com amostras reais. Mas também abre novas possibilidades de futuros estudos para quantificá-los.

Figura 22. Metabolitos majoritários identificados para 25H-NBOH e 25B-NBOH.



5.5.2. Quantificação de 25H-NBOH e 25B-NBOH em selos sintéticos

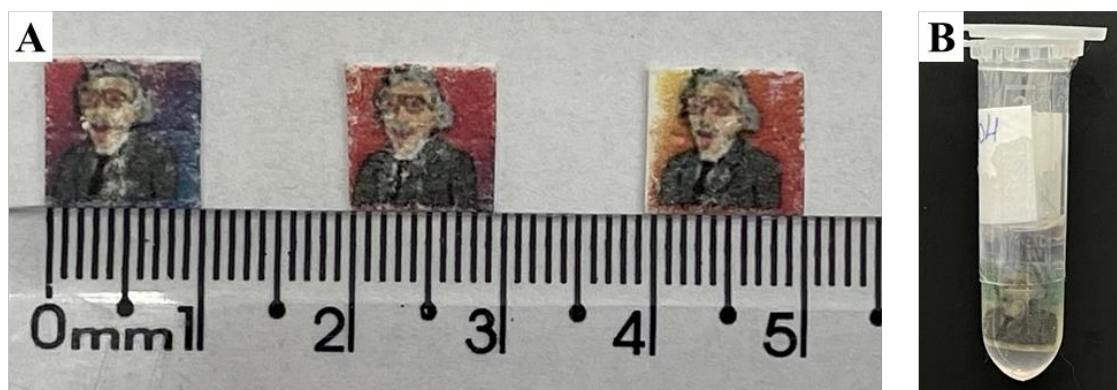
Como a principal forma de comercialização dessas drogas é em selos produzidos em papel mata-borrão, o método foi aplicado para quantificá-las nesta matriz. Devido à dificuldade de obtenção de amostras reais, confeccionamos selos em laboratório para utilização neste trabalho.

Os selos de papel mata borrão foram preparados em concentrações de 25 e 100 μg por selo com medidas aproximadas de 1 x 1 cm (Figura 23A), uma vez que drogas das classes NBOH e NBOMe são encontrados em papéis absorventes em concentrações que variam entre 7,0 e 1.500,0 μg por selo.[17]

Após confecção, um selo foi dobrado ao meio e transferido para um microtubo tipo eppendorf onde foi extraído com 1 mL de solvente utilizando ultrassom por 1 minuto (Figura 23B). Foi testado extração com metanol e DMSO, sendo os dois solventes capazes de extrair as drogas dos selos. Entretanto, trabalhar com a solução de extração com metanol se mostrou desafiador, devido à dificuldade de pipetar o solvente pouco viscoso e possíveis alteração na concentração da solução por ser um solvente volátil. Assim o DMSO foi escolhido como solvente extrator. Foi observado

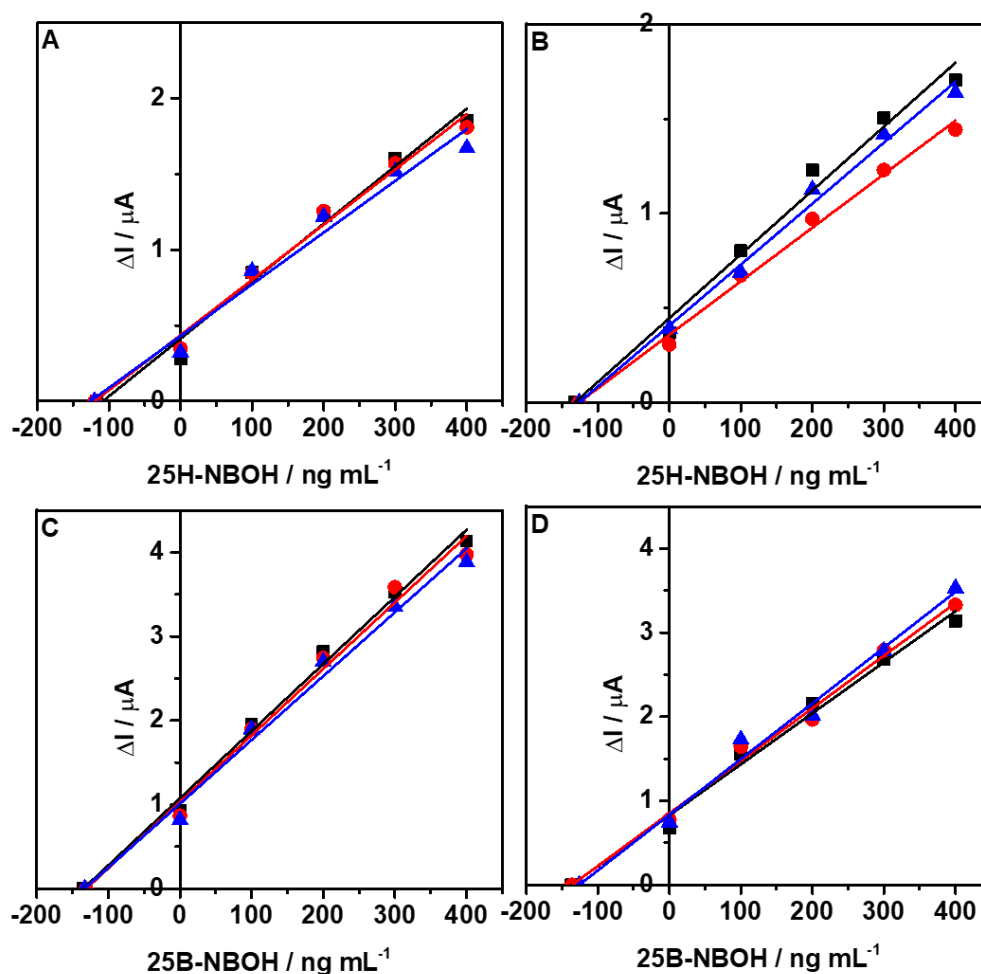
também que o DMSO extraiu maior quantidade de tinta dos selos, mas isso não se mostrou como um interferente nas análises.

Figura 23. **A)** Selos preparados em papel mata-borrão e **B)** extração do selo com 1 mL de DMSO.



As amostras de selo foram analisadas em triplicata e a concentração das drogas foi obtida pelo método de adição de padrão como mostrado nas curvas analíticas da Figura 24.

Figura 24. Curvas de adição de padrão para quantificação de (A,B) selos contendo 25 e 100 μg de 25H-NBOH, respectivamente. (C,D) Selos contendo 25 e 100 μg de 25B-NBOH, respectivamente.



Em ambos os selos foi possível realizar quantificação com bons valores de recuperação. Nos selos contendo 25 μg das drogas foram encontrados $23,3 \pm 1,1 \mu\text{g}$ para 25H-NBOH e $26,5 \pm 0,4 \mu\text{g}$ para 25B-NBOH, com valores de recuperação de 93,4% e 106,3%, respectivamente. Nos selos contendo 100 μg das drogas, foram encontrados $102,7 \pm 2,9 \mu\text{g}$ para 25H-NBOH e $106,3 \pm 4,6 \mu\text{g}$ para 25B-NBOH, com valores de recuperação de 102,7% e 106,3%, respectivamente (Tabela 8).

Tabela 8. Valores de recuperação obtidos pelo método em selos fortificados.

Analito	Fortificação (μg por selo)	DPV (μg por selo)	Recuperação/ %
25H-NBOH	25	$23,3 \pm 1,1$	$93,4 \pm 3,7$
	100	$102,7 \pm 2,9$	$102,7 \pm 2,9$
25B-NBOH	25	$26,5 \pm 0,4$	$106,3 \pm 1,5$
	100	$106,3 \pm 4,6$	$106,3 \pm 4,6$

Os valores de recuperação obtidos indicam que o método voltamétrico proposto associado ao EC pode ser usado para quantificar 25H-NBOH e 25B-NBOH em selos sem interferência da matriz.

Este é o primeiro trabalho que demonstra o uso da voltametria de pulso diferencial para o estudo eletroquímico e quantificação de 25H-NBOH e 25B-NBOH. Neste trabalho não foi realizado nenhum estudo de interferência, mas outros trabalhos da literatura demonstram que quando métodos eletroquímicos são utilizados para identificar NBOHs, outras drogas comumente encontradas em selos, como o LSD, não respondem no mesmo potencial, mostrando que métodos eletroquímicos têm boa seletividade para esta classe.[105] Porém, como também demonstrado neste trabalho, muitas substâncias das classes NBOHs e NBOMes apresentam picos semelhantes. As técnicas cromatográficas são as mais utilizadas para identificação e quantificação dessas drogas, mostrando-se ainda mais seletivas, possibilitando diferenciar substâncias dentro de uma mesma classe. [103,106]

Como pode ser observado, o método não pode ser utilizado para identificação das substâncias, apenas sua quantificação. Do ponto de vista prático para aplicação em rotinas de laboratórios forense isso seria uma desvantagem, visto que nesses casos é mais importante a identificação de determinada substância em detrimento com sua quantificação. Entretanto, diversos outros cenários em que necessite de quantificação das drogas, o método pode ser aplicado após uma análise preliminar, por exemplo, infravermelho pode ser utilizado para identificação da substância presente em uma amostra, e em seguida o método voltamétrico pode ser utilizado para quantificação.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi proposto pela primeira vez um método para quantificar as drogas 25H-NBOH e 25B-NBOH em amostras de urina e selo sintéticos, bem como seus respectivos mecanismos eletroquímicos, utilizando técnicas voltamétricas associadas ao eletrodo compósito à base de grafite/PCI (7:3). Estes resultados respondem parcialmente os objetivos inicialmente buscados, que era o estudo de uma gama maior de drogas. Entretanto, devido à similaridade estrutural entre as drogas, elas apresentaram voltamogramas coincidentes, o que inviabilizou estudo de todas devido ao tempo disponível para concluir o trabalho.

O mecanismo de oxidação proposto para 25H-NBOH e 25B-NBOH compreende duas etapas principais. Inicialmente, envolve a oxidação da amina secundária e, posteriormente, ocorre a substituição do bromo ou metóxi formando um intermediário carbonílico. Vale ressaltar que mesmo já possuindo mecanismo proposto para outras drogas dessa classe, este é o primeiro trabalho que propôs mecanismo para 25H-NBOH e 25B-NBOH, contribuindo para a literatura sobre estudos eletroquímicos de fenetilaminas substituídas.

Um método voltamétrico foi otimizado obtendo valores de repetibilidade com desvio padrão relativo entre 1,74% e 3,54% e precisão intermediária com DPR entre 1,50% e 3,54%. O método foi utilizado para quantificação de 25H-NBOH e 25B-NBOH em urina sintética enriquecida e em selos com bons resultados para LD = 19 ng mL⁻¹ e 23 ng mL⁻¹ e LQ = 64 ng mL⁻¹ e 76 ng mL⁻¹, faixa linear 100 ng mL⁻¹ – 800 ng mL⁻¹ e 100 ng mL⁻¹ – 700 ng mL⁻¹, respectivamente. Os valores de recuperação do método variaram de 95,3 a 103,7% para urina sintética e 93,4 e 106,3% para selo, mostrando que o método pode ser aplicado para determinação de 25H-NBOH e 25B-NBOH em urina e selos sem interferência da matriz.

O método se mostra como uma alternativa barata e rápida, quando comparado com os comumente utilizados, entretanto é apenas um método de quantificação, pois não é capaz de diferenciar as diferentes drogas dentro da mesma classe. Ademais, isso pode ser mostrar como uma limitação do método do ponto de vista prático, pois é comum que amostras de drogas seja composta por misturas delas, não sendo

possível identificá-las individualmente. Mas não se descarta a possibilidade de utilizar como método presuntivo para laboratórios que ainda não possuem rotinas para identificação de drogas.

Essa limitação abre possibilidade para estudos futuros, principalmente com uso de quimiometria para se tentar diferenciar as diferentes drogas dentro da mesma classe.

Além disso, a validação do método mostrou que o eletrodo compósito atendeu aos parâmetros para quantificação das drogas, sendo uma alternativa de baixo custo aos eletrodos comerciais. Em um cenário de recursos cada vez mais escassos na ciência brasileira, o uso de materiais baratos tanto na pesquisa, quanto como recurso didático em aulas práticas pode ser um caminho a ser seguido.

REFERÊNCIAS

- [1] United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC), UNODC World Drug Report 2023, (2023). https://reliefweb.int/report/world/unodc-world-drug-report-2023-enarruzh?gclid=CjwKCAjwzo2mBhAUEiwAf7wjkgg4rSwdxUs-pBSWpXU3-YyR63l1KYPt-l6Gtl40iGX9CmCrPBOxxoCjGUQAvD_BwE (accessed September 7, 2023).
- [2] R. Heim, *Synthese und pharmakologie potenter 5-HT_{2A}-rezeptoragonisten mit N-2-methoxybenzyl-partialstruktur*, Freien Universität Berlin, 2003. <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/11995>.
- [3] Paula Paiva Paulo, Após laudo apontar uso de droga, pais de morto na USP negam vício, <https://G1.Globo.Com/Sao-Paulo/Noticia/2014/10/Apos-Laudo-Apontar-Uso-de-Droga-Pais-de-Morto-Na-Usp-Negam-Vicio.Html> (2014).
- [4] Juscelene Melo, <https://www.to.gov.br/ssp/noticias/policia-cientifica-identifica-nova-droga-poderosa-apreendida-como-isd-no-estado/2k183s48zs66>, <https://Www.to.Gov.Br/Ssp/Noticias/Policia-Cientifica-Identifica-Nova-Droga-Poderosa-Apreendida-Como-Lsd-No-Estado/2k183s48zs66> (2021).
- [5] Anvisa, RESOLUÇÃO - RDC Nº 835, DE 13 DE DEZEMBRO DE 2023, https://Www.Gov.Br/Anvisa/Pt-Br/Assuntos/Medicamentos/Controlados/Copy_of_RESOLUORDCN835DE13DEDEZEMBRODE2023RESOLUORDCN835DE13DEDEZEMBRODE2023DOUImprensaNacional.Pdf (2024).
- [6] J. Coelho Neto, A.F.B. Andrade, R.A. Lordeiro, Y. Machado, M. Elie, E. Ferrari Júnior, L.C. Arantes, Preventing misidentification of 25I-NBOH as 2C-I on routine GC-MS analyses, *Forensic Toxicol* 35 (2017) 415–420. <https://doi.org/10.1007/s11419-017-0362-0>.
- [7] N. Serrano, Ò. Castilla, C. Ariño, M. Diaz-Cruz, J. Díaz-Cruz, Commercial Screen-Printed Electrodes Based on Carbon Nanomaterials for a Fast and Cost-Effective Voltammetric Determination of Paracetamol, Ibuprofen and Caffeine in Water Samples, *Sensors* 19 (2019) 4039. <https://doi.org/10.3390/s19184039>.
- [8] S.L.Z. Jiokeng, I.K. Tonle, A. Walcarius, Amino-attapulgit/mesoporous silica composite films generated by electro-assisted self-assembly for the voltammetric determination of diclofenac, *Sens Actuators B Chem* 287 (2019) 296–305. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.02.038>.
- [9] D.E. Tallman, S.L. Petersen, Composite electrodes for electroanalysis: Principles and applications, *Electroanalysis* 2 (1990) 499–510. <https://doi.org/10.1002/elan.1140020702>.
- [10] E.M. da Silva, G.C. de Oliveira, A.B. de Siqueira, A.J. Terezo, M. Castilho, Development of a composite electrode based on graphite and polycaprolactone for the determination of antihypertensive drugs, *Microchemical Journal* 158 (2020) 105228. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105228>.

- [11] K. Patil, A. Pandey, Voltammetric Analysis of New Psychoactive Substances, *Arab Journal of Forensic Sciences and Forensic Medicine* 3 (2021) 297–314. <https://doi.org/10.26735/MZYC3707>.
- [12] United Nations, List of Psychotropic Substances under International Control, <https://www.incb.org/Documents/Psychotropics/Forms/Greenlist/2024/2311984E.Pdf> (2024).
- [13] A. Shulgin, A. Shulgin, *Phenethylamines I Have Known And Loved: A chemical love story*, 1st ed., Transform Press, United States, 1991.
- [14] W.A. de Barros, M.P. Queiroz, L. da Silva Neto, G.M. Borges, F.T. Martins, Â. de Fátima, Synthesis of 25X-BOMes and 25X-NBOHs (X = H, I, Br) for pharmacological studies and as reference standards for forensic purposes, *Tetrahedron Lett* (2021) 152804. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2020.152804>.
- [15] A. Rickli, D. Luethi, J. Reinisch, D. Buchy, M.C. Hoener, M.E. Liechti, Receptor interaction profiles of novel N-2-methoxybenzyl (NBOMe) derivatives of 2,5-dimethoxy-substituted phenethylamines (2C drugs), *Neuropharmacology* 99 (2015) 546–553. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.08.034>.
- [16] B. Duffau, C. Camargo, M. Kogan, E. Fuentes, B.K. Cassels, Analysis of 25C-NBOMe in seized blotters by HPTLC and GC-MS, *J Chromatogr Sci* 54 (2016) 1153–1158. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmw095>.
- [17] J.L. Poklis, S.A. Raso, K.N. Alford, A. Poklis, M.R. Peace, Analysis of 25I-NBOMe, 25B-NBOMe, 25C-NBOMe and other dimethoxyphenyl-N-[(2-methoxyphenyl) methyl]ethanamine derivatives on blotter paper, *J Anal Toxicol* 39 (2015) 617–623. <https://doi.org/10.1093/jat/bkv073>.
- [18] M. Wiergowski, J. Aszyk, M. Kaliszan, K. Wilczewska, J.S. Anand, A. Kot-Wasik, Z. Jankowski, Identification of novel psychoactive substances 25B-NBOMe and 4-CMC in biological material using HPLC-Q-TOF-MS and their quantification in blood using UPLC-MS/MS in case of severe intoxications, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1041 (2017) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.12.018>.
- [19] L. Morini, M. Bernini, S. Vezzoli, M. Restori, M. Moretti, S. Crenna, P. Papa, C. Locatelli, A.M.M. Osculati, C. Vignali, A. Groppi, Death after 25C-NBOMe and 25H-NBOMe consumption, *Forensic Sci Int* 279 (2017) e1–e6. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.08.028>.
- [20] M.F. Andreasen, R. Telving, I. Rosendal, M.B. Eg, J.B. Hasselstrøm, L.V. Andersen, A fatal poisoning involving 25C-NBOMe, *Forensic Sci Int* 251 (2015) e1–e8. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.03.012>.
- [21] J.L. Poklis, K.G. Devers, E.F. Arbefeville, J.M. Pearson, E. Houston, A. Poklis, Postmortem detection of 25I-NBOMe [2-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]ethanamine] in fluids and tissues determined by high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry from a traumatic death, *Forensic Sci Int* 234 (2014) e14–e20. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.10.015>.

- [22] K.G. Shanks, T. Sozio, G.S. Behonick, Fatal Intoxications with 25B-NBOMe and 25I-NBOMe in Indiana During 2014, *J Anal Toxicol* 39 (2015) 602–606. <https://doi.org/10.1093/jat/bkv058>.
- [23] L.M. Lowe, B.L. Peterson, F.J. Couper, A Case Review of the First Analytically Confirmed 25I-NBOMe-Related Death in Washington State, *J Anal Toxicol* 39 (2015) 668–671. <https://doi.org/10.1093/jat/bkv092>.
- [24] V.B. Kueppers, C.T. Cooke, 25I-NBOMe related death in Australia: A case report, *Forensic Sci Int* 249 (2015) e15–e18. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.02.010>.
- [25] W.A. de Barros, C. da S. Nunes, J.A. da C.R. Souza, I.J. dos S. Nascimento, I.M. Figueiredo, T.M. de Aquino, L. Vieira, D. Farias, J.C.C. Santos, Â. de Fátima, The new psychoactive substances 25H-NBOMe and 25H-NBOH induce abnormal development in the zebrafish embryo and interact in the DNA major groove, *Curr Res Toxicol* 2 (2021) 386–398. <https://doi.org/10.1016/j.crtox.2021.11.002>.
- [26] W.A. de Barros, M. de Magalhães Silva, M.D. de Araújo Dantas, J. Santos, I. Figueiredo, O.A. Chaves, C. Sant’Anna, Â. de Fátima, Recreational drugs 25I-NBOH and 25I-NBOMe bind to both Sudlow’s sites I and II of Human Serum Albumin (HSA): Biophysical and molecular modeling studies, *New Journal of Chemistry* (2021). <https://doi.org/10.1039/D1NJ00806D>.
- [27] L.M.G. Cassiano, M. da S. Oliveira, W.A. de Barros, Â. de Fátima, R.S. Coimbra, Neurotoxic effects of hallucinogenic drugs 25H-NBOMe and 25H-NBOH in organotypic hippocampal cultures, *Heliyon* 9 (2023) e17720. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17720>.
- [28] A. Bard, L. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed., Wiley, 2001.
- [29] B.J. Venton, D.J. DiScenza, Voltammetry, in: *Electrochemistry for Bioanalysis*, Elsevier, 2020: pp. 27–50. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821203-5.00004-X>.
- [30] K.B. Oldham, C.G. Zoski, Chapter 2 Mass Transport to Electrodes, in: 1986: pp. 79–143. [https://doi.org/10.1016/S0069-8040\(08\)70026-8](https://doi.org/10.1016/S0069-8040(08)70026-8).
- [31] C.G. Zoski, *Handbook of Electrochemistry*, 1st ed., Elsevier, The Netherlands, 2007.
- [32] A.S. Kumar, R. Desikan, M. Gandhi, S.-T. Huang, G. Verma, Manasa Deepa R., *Electrochemistry of Phytochemicals and Natural Products*, in: M.K. Swamy, G.R. Rudramurthy (Eds.), *Phytochemicals: Sources and Bioactivities*, 1st ed., Studium Press, 2019.
- [33] D.K. Gosser, *Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, 1st ed., Wiley–Blackwell, 1993.
- [34] D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch, *Fundamentos de Química Analítica*, 8th ed., Thomson, São Paulo, 2006.

- [35] C.M.A. BRETT, A.M.O. BRETT, *ELECTROCHEMISTRY Principles, Methods, and Applications*, Oxford University Press, New York, 1993.
- [36] D. De Souza, S.A.S. Machado, L.A. Avaca, *VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA. PRIMEIRA PARTE: ASPECTOS TEÓRICOS*, 2003.
- [37] D.E. Tallman¹, S.L. Petersen², *Composite Electrodes for Electroanalysis: Principles and Applications*, 1990.
- [38] I. Corb, F. Manea, C. Radovan, A. Pop, G. Burtica, P. Malchev, S. Picken, J. Schoonman, Carbon-based Composite Electrodes: Preparation, Characterization and Application in Electroanalysis, *Sensors* 7 (2007) 2626–2635. www.mdpi.org/sensors.
- [39] R.N. Adams, Carbon Paste Electrodes, *Anal Chem* 30 (1958) 1576–1576. <https://doi.org/10.1021/ac60141a600>.
- [40] Joseph. Wang, Teresa. Golden, Kurian. Varughese, Ibrahim. El-Rayes, Polishable and robust modified graphite epoxy electrodes, *Anal Chem* 61 (1989) 508–512. <https://doi.org/10.1021/ac00180a027>.
- [41] H.S. Swofford, R.L. Carman, Voltammetric Applications of Rotating Carbon-Epoxy Electrodes., *Anal Chem* 38 (1966) 966–969. <https://doi.org/10.1021/ac60240a007>.
- [42] L.N. Klatt, D.R. Connell, R.E. Adams, I.L. Honigberg, J.C. Price, Voltammetric characterization of a graphite-teflon electrode, *Anal Chem* 47 (1975) 2470–2472. <https://doi.org/10.1021/ac60364a015>.
- [43] K. Štulík, V. Pacáková, B. Stárková, Carbon pastes for voltammetric detectors in high-performance liquid chromatography, *J Chromatogr A* 213 (1981) 41–46. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)80630-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)80630-5).
- [44] T. Navratil, J. Barek, Analytical applications of composite solid electrodes, *Crit Rev Anal Chem* 39 (2009) 131–147. <https://doi.org/10.1080/10408340903011796>.
- [45] P. Ferreira Da Silva, B. Ferreira Gomes, C.M. Silva Lobo, M. Carmo, C. Roth, L.A. Colnago, Composite Graphite-Epoxy Electrodes for In Situ Electrochemistry Coupling with High Resolution NMR, *ACS Omega* 7 (2022) 4991–5000. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05823>.
- [46] F. Marken, M.L. Gerrard, I.M. Mellor, R.J. Mortimer, C.E. Madden, S. Fletcher, K. Holt, J.S. Foord, R.H. Dahm, F. Page, Voltammetry at carbon nanofiber electrodes, *Electrochem Commun* 3 (2001) 177–180. [https://doi.org/10.1016/S1388-2481\(01\)00132-1](https://doi.org/10.1016/S1388-2481(01)00132-1).
- [47] R. Olivé-Monllau, M.J. Esplandiu, J. Bartrolí, M. Baeza, F. Céspedes, Strategies for the optimization of carbon nanotube/polymer ratio in composite materials: Applications as voltammetric sensors, *Sens Actuators B Chem* 146 (2010) 353–360. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.02.017>.

- [48] Y. Fan, J.-H. Liu, C.-P. Yang, M. Yu, P. Liu, Graphene–polyaniline composite film modified electrode for voltammetric determination of 4-aminophenol, *Sens Actuators B Chem* 157 (2011) 669–674. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.05.053>.
- [49] S. Šebková, T. Navrátil, M. Kopanica, Graphite composite electrode in voltammetry, *Anal Lett* 38 (2005) 1747–1758. <https://doi.org/10.1080/00032710500210535>.
- [50] R. Sengupta, M. Bhattacharya, S. Bandyopadhyay, A.K. Bhowmick, A review on the mechanical and electrical properties of graphite and modified graphite reinforced polymer composites, *Progress in Polymer Science (Oxford)* 36 (2011) 638–670. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.11.003>.
- [51] D.D.L. Chung, Review Graphite, n.d.
- [52] M.C. Blanco-López, L. Fernández-Llano, M.J. Lobo-Castañón, A.J. Miranda-Ordieres, P. Tuñón-Blanco, Voltammetry of Diclofenac at Graphite, Carbon Composites, and Molecularly Imprinted Polymer-Composite Electrodes, *Anal Lett* 37 (2004) 915–927. <https://doi.org/10.1081/AL-120030287>.
- [53] M. Pumera, M. Aldavert, C. Mills, A. Merkoçi, S. Alegret, Direct voltammetric determination of gold nanoparticles using graphite-epoxy composite electrode, *Electrochim Acta* 50 (2005) 3702–3707. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.01.035>.
- [54] S. Carrévalo, A. Merkoçi, S. Alegret, Application of graphite-epoxy composite electrodes in differential pulse anodic stripping voltammetry of heavy metals, *Microchimica Acta* 147 (2004) 245–251. <https://doi.org/10.1007/s00604-004-0229-z>.
- [55] T.R. Saciloto, P. Cervini, É.T.G. Cavalheiro, Simultaneous Voltammetric Determination of Acetaminophen and Caffeine at a Graphite and Polyurethane Screen-Printed Composite Electrode, *J Braz Chem Soc* (2013). <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20130186>.
- [56] C. Fernández, A.J. Reviejo, J.M. Pingarrón, Development of graphite-poly(tetrafluoroethylene) composite electrodes Voltammetric determination of the herbicides thiram and disulfiram, *Anal Chim Acta* 305 (1995) 192–199. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(94\)00343-K](https://doi.org/10.1016/0003-2670(94)00343-K).
- [57] F. Albertús, A. Llerena, J. Alpízar, V. Cerdá, M. Luque, A. Ríos, M. Valcárcel, A PVC–graphite composite electrode for electroanalytical use. Preparation and some applications, *Anal Chim Acta* 355 (1997) 23–32. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(97\)81608-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)81608-X).
- [58] J.-Y. Jin, F. Xu, T. Miwa, Cathodic Stripping Voltammetry for Determination of Trace Manganese with Graphite/Styrene-Acrylonitrile Copolymer Composite Electrodes, *Electroanalysis* 12 (2000) 610–615. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4109\(200005\)12:8<610::AID-ELAN610>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4109(200005)12:8<610::AID-ELAN610>3.0.CO;2-K).

- [59] L. Moreno-Baron, A. Merkoçi, S. Alegret, Graphite-epoxy composite as an alternative material to design mercury free working electrodes for stripping voltammetry, *Electrochim Acta* 48 (2003) 2599–2605. [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(03\)00303-7](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(03)00303-7).
- [60] I.A. Mattioli, M. Baccarin, P. Cervini, É.T.G. Cavaleiro, Electrochemical investigation of a graphite-polyurethane composite electrode modified with electrodeposited gold nanoparticles in the voltammetric determination of tryptophan, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 835 (2019) 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.12.056>.
- [61] J. Navarro-Laboulais, J. Trijueque, J.J. García-Jareño, F. Vicente, Ohmic drop effect on the voltammetric behaviour of graphite + polyethylene composite electrodes, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 422 (1997) 91–97. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(96\)04898-X](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(96)04898-X).
- [62] R. Santhanam, M. Noel, Effect of solvents on the intercalation/de-intercalation behaviour of monovalent ionic species from non-aqueous solvents on polypropylene-graphite composite electrode, *J Power Sources* 66 (1997) 47–54. [https://doi.org/10.1016/S0378-7753\(96\)02472-X](https://doi.org/10.1016/S0378-7753(96)02472-X).
- [63] A.R. Khaskheli, J. Fischer, J. Barek, V. Vyskočil, Sirajuddin, M.I. Bhangar, Differential pulse voltammetric determination of paracetamol in tablet and urine samples at a micro-crystalline natural graphite–polystyrene composite film modified electrode, *Electrochim Acta* 101 (2013) 238–242. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.09.102>.
- [64] A. Doménech-Carbó, M.T. Doménech-Carbó, L. Osete-Cortina, J.V. Gimeno-Adelantado, S. Sánchez-Ramos, F. Bosch-Reig, Quantitation of Metal Ions in Archaeological Glass by Abrasive Stripping Square-Wave Voltammetry Using Graphite/Polyester Composite Electrodes, *Electroanalysis* 15 (2003) 1465–1475. <https://doi.org/10.1002/elan.200302716>.
- [65] Emilene Mendonça da Silva, Desenvolvimento de um eletrodo composto à base de grafite e policaprolactona aplicado para a determinação de anti-hipertensivos, Universidade Federal de Mato Grosso, 2019.
- [66] R.M. Mohamed, K. Yusoh, A Review on the Recent Research of Polycaprolactone (PCL), *Adv Mat Res* 1134 (2015) 249–255. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1134.249>.
- [67] C.Y. Lee, S. Sayyar, P.J. Molino, G.G. Wallace, A robust 3D printed multilayer conductive graphene/polycaprolactone composite electrode, *Mater Chem Front* 4 (2020) 1664–1670. <https://doi.org/10.1039/c9qm00780f>.
- [68] K.M. Clark, C.S. Henry, Thermoplastic Electrode (TPE)-based Enzymatic Glucose Sensor Using Polycaprolactone-graphite Composites, *Electroanalysis* 34 (2022) 1869–1876. <https://doi.org/10.1002/elan.202100446>.
- [69] E.R. Leone, L.S. Ferraraccio, G. Damonte, P. Lova, P. Bertocello, O. Monticelli, On the development of electrochemical sensors coated with polycaprolactone,

- Electrochem Commun 129 (2021).
<https://doi.org/10.1016/j.elecom.2021.107089>.
- [70] A.F.B. Andrade, S.K. Mamo, J. Gonzalez-Rodriguez, Rapid screening method for new psychoactive substances of forensic interest: Electrochemistry and analytical determination of phenethylamines derivatives (NBOMe) via cyclic and differential pulse voltammetry, *Anal Chem* 89 (2016) 1445–1452. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b02426>.
- [71] G.A. Souza, D.M. Pimentel, A.B. Lima, T.J. Guedes, L.C. Arantes, A.C. De Oliveira, R.M.F. Sousa, R.A.A. Muñoz, W.T.P. Dos Santos, Electrochemical sensing of NBOMes and other new psychoactive substances in blotting paper by square-wave voltammetry on a boron-doped diamond electrode, *Analytical Methods* 10 (2018) 2411–2418. <https://doi.org/10.1039/c8ay00385h>.
- [72] J. González-Hernández, A.L. Alvarado-Gámez, L.E. Arroyo-Mora, M. Barquero-Quirós, Electrochemical determination of novel psychoactive substances by differential pulse voltammetry using a microcell for boron-doped diamond electrode and screen-printed electrodes based on carbon and platinum, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 882 (2021) 114994. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2021.114994>.
- [73] A.F. Belchior de Andrade, J. Gonzalez-Rodriguez, Electroanalytical identification of 25I-NBOH and 2C-I via differential pulse voltammetry: a rapid and sensitive screening method to avoid misidentification, *Analyst* 144 (2019) 2965–2972. <https://doi.org/10.1039/C9AN00062C>.
- [74] É.N. Oiyé, J. Midori Toia Katayama, M. Fernanda Muzetti Ribeiro, M.F. de Oliveira, Electrochemical analysis of 25H-NBOMe by Square Wave Voltammetry, *Forensic Chemistry* 5 (2017) 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2017.07.001>.
- [75] W.A. de Barros, M.P. Queiroz, L. da Silva Neto, G.M. Borges, F.T. Martins, Â. de Fátima, Synthesis of 25X-BOMes and 25X-NBOHs (X = H, I, Br) for pharmacological studies and as reference standards for forensic purposes, *Tetrahedron Lett* (2021) 152804. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2020.152804>.
- [76] D. Lu, C. Sullivan, E.M. Brack, C.P. Drew, P. Kurup, Simultaneous voltammetric detection of cadmium(II), arsenic(III), and selenium(IV) using gold nanostar-modified screen-printed carbon electrodes and modified Britton-Robinson buffer, *Anal Bioanal Chem* 412 (2020) 4113–4125. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02642-4>.
- [77] C.G. Zoski, *Handbook of Electrochemistry*, 1st ed., Elsevier, The Netherlands, 2007.
- [78] E.M. Silva, G.C. De Oliveira, A.B. De Siqueira, A.J. Terezo, M. Castilho, Development of a composite electrode based on graphite and polycaprolactone for the determination of antihypertensive drugs, *Microchemical Journal* (2020) 105228. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105228>.

- [79] N. Laube, B. Mohr, A. Hesse, Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines, *J Cryst Growth* 233 (2001) 367–374. [https://doi.org/10.1016/S0022-0248\(01\)01547-0](https://doi.org/10.1016/S0022-0248(01)01547-0).
- [80] E.M. Silva, G.C. De Oliveira, A.B. De Siqueira, A.J. Terezo, M. Castilho, Development of a composite electrode based on graphite and polycaprolactone for the determination of antihypertensive drugs, *Microchemical Journal* (2020) 105228. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105228>.
- [81] Z. Ma, S. Dou, A. Shen, L. Tao, L. Dai, S. Wang, Sulfur-Doped Graphene Derived from Cycled Lithium–Sulfur Batteries as a Metal-Free Electrocatalyst for the Oxygen Reduction Reaction, *Angewandte Chemie International Edition* 54 (2015) 1888–1892. <https://doi.org/10.1002/anie.201410258>.
- [82] A.F.B. Andrade, S.K. Mamo, J. Gonzalez-Rodriguez, Rapid Screening Method for New Psychoactive Substances of Forensic Interest: Electrochemistry and Analytical Determination of Phenethylamines Derivatives (NBOMe) via Cyclic and Differential Pulse Voltammetry, *Anal Chem* 89 (2017) 1445–1452. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b02426>.
- [83] A.F.B. de Andrade, J. Gonzalez-Rodriguez, Electroanalytical identification of 25I-NBOH and 2C-I via differential pulse voltammetry: a rapid and sensitive screening method to avoid misidentification, *Analyst* 144 (2019) 2965–2972. <https://doi.org/10.1039/C9AN00062C>.
- [84] M. Gandhi, D. Rajagopal, A. Senthil Kumar, *In situ* electro-organic synthesis of hydroquinone using anisole on MWCNT/Nafion modified electrode surface and its heterogeneous electrocatalytic reduction of toxic Cr(VI) species, *RSC Adv* 11 (2021) 4062–4076. <https://doi.org/10.1039/D0RA10370E>.
- [85] C.-C. Zeng, J.Y. Becker, Anodic Oxidation of Mono- and Disubstituted 1,4-Dimethoxybenzenes, *J Org Chem* 69 (2004) 1053–1059. <https://doi.org/10.1021/jo0302253>.
- [86] R.D. Crapnell, C.E. Banks, Electroanalytical overview: The electroanalytical detection of theophylline, *Talanta Open* 3 (2021) 100037. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100037>.
- [87] N.L. Queiroz, J.A.M. Nascimento, M.L. Nascimento, V.B. Nascimento, S.C.B. Oliveira, Oxidation Mechanism of Fluorescein at Glassy Carbon Electrode, *Electroanalysis* 29 (2017) 489–496. <https://doi.org/10.1002/elan.201600456>.
- [88] É.N. Oiyé, J. Midori Toia Katayama, M. Fernanda Muzetti Ribeiro, M.F. de Oliveira, Electrochemical analysis of 25H-NBOMe by Square Wave Voltammetry, *Forensic Chemistry* 5 (2017) 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2017.07.001>.
- [89] B. Magnusson, U. Örnemark, *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, 2014.

- [90] M. Hermanns-Clausen, V. Angerer, J. Kithinji, C. Grumann, V. Auwärter, Bad trip due to 25I-NBOMe: a case report from the EU project SPICE II plus, *Clin Toxicol* 55 (2017) 922–924. <https://doi.org/10.1080/15563650.2017.1319572>.
- [91] V.B. Kueppers, C.T. Cooke, 25I-NBOMe related death in Australia: A case report, *Forensic Sci Int* 249 (2015) e15–e18. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.02.010>.
- [92] D.M. Wood, R. Sedefov, A. Cunningham, P.I. Dargan, Prevalence of use and acute toxicity associated with the use of NBOMe drugs, *Clin Toxicol* 53 (2015) 85–92. <https://doi.org/10.3109/15563650.2015.1004179>.
- [93] L. Morini, M. Bernini, S. Vezzoli, M. Restori, M. Moretti, S. Crenna, P. Papa, C. Locatelli, A.M.M. Osculati, C. Vignali, A. Groppi, Death after 25C-NBOMe and 25H-NBOMe consumption, *Forensic Sci Int* 279 (2017) e1–e6. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.08.028>.
- [94] J.L. Poklis, D.J. Clay, A. Poklis, High-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of nine hallucinogenic 25-NBOMe designer drugs in urine specimens, *J Anal Toxicol* 38 (2014) 113–121. <https://doi.org/10.1093/jat/bku005>.
- [95] S. Barrington, P. Gee, G. Moore, B.P. Jensen, L.J. Schep, Case series: toxicity from 25B-NBOMe – a cluster of N-bomb cases, *Clin Toxicol* 54 (2015) 141–146. <https://doi.org/10.3109/15563650.2015.1115056>.
- [96] J.L. Poklis, C.R. Nanco, M.M. Troendle, C.E. Wolf, A. Poklis, Determination of 4-bromo-2,5-dimethoxy-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]-benzeneethanamine (25B-NBOMe) in serum and urine by high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry in a case of severe intoxication, *Drug Test Anal* 6 (2014) 764–769. <https://doi.org/10.1002/dta.1522>.
- [97] M.H.Y. Tang, C.K. Ching, M.S.H. Tsui, F.K.C. Chu, T.W.L. Mak, Two cases of severe intoxication associated with analytically confirmed use of the novel psychoactive substances 25B-NBOMe and 25C-NBOMe, *Clin Toxicol* 52 (2014) 561–565. <https://doi.org/10.3109/15563650.2014.909932>.
- [98] M.F. Andreasen, R. Telving, I. Rosendal, M.B. Eg, J.B. Hasselstrøm, L.V. Andersen, A fatal poisoning involving 25C-NBOMe, *Forensic Sci Int* 251 (2015) e1–e8. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.03.012>.
- [99] J.J. Kristofic, J.D. Chmiel, G.F. Jackson, S.P. Vorce, J.M. Holler, S.L. Robinson, T.Z. Bosy, Detection of 25C-NBOMe in three related cases, *J Anal Toxicol* 40 (2016) 466–472. <https://doi.org/10.1093/jat/bkw035>.
- [100] J.L. Poklis, K.G. Devers, E.F. Arbefeville, J.M. Pearson, E. Houston, A. Poklis, Postmortem detection of 25I-NBOMe [2-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]ethanamine] in fluids and tissues determined by high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry from a traumatic death, *Forensic Sci Int* 234 (2014) e14–e20. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.10.015>.

- [101] A. Ameline, P. Kintz, C. Blettner, É. Bayle, J.S. Raul, Identification of 25I-NBOMe in two intoxications cases with severe hallucinations, *Toxicologie Analytique et Clinique* 29 (2017) 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2016.11.004>.
- [102] S.J. Stellpflug, S.E. Kealey, C.B. Hegarty, G.C. Janis, 2-(4-Iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]ethanamine (25I-NBOMe): Clinical Case with Unique Confirmatory Testing, *Journal of Medical Toxicology* 10 (2014) 45–50. <https://doi.org/10.1007/s13181-013-0314-y>.
- [103] J.L. Poklis, C.R. Nanco, M.M. Troendle, C.E. Wolf, A. Poklis, Determination of 4-bromo-2,5-dimethoxy-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]-benzeneethanamine (25B-NBOMe) in serum and urine by high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry in a case of severe intoxication, *Drug Test Anal* 6 (2014) 764–769. <https://doi.org/10.1002/dta.1522>.
- [104] J. Xiang, D. Wen, W. Zhai, J. Zhao, P. Xiang, C. Ma, Y. Shi, Metabolic characterization of 25X-NBOH and 25X-NBOMe phenethylamines based on UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS in human liver microsomes, *J Pharm Biomed Anal* 242 (2024) 116020. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2024.116020>.
- [105] L. V. de Faria, A.A. Macedo, L.C. Arantes, T.A. Matias, D.L.O. Ramos, E.M. Richter, W.T.P. dos Santos, R.A.A. Muñoz, Novel disposable and portable 3D-printed electrochemical apparatus for fast and selective screening of 25E-NBOH in forensic samples, *Talanta* 269 (2024) 125476. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125476>.
- [106] J.L. Poklis, D.J. Clay, A. Poklis, High-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of nine hallucinogenic 25-NBOMe designer drugs in urine specimens, *J Anal Toxicol* 38 (2014) 113–121. <https://doi.org/10.1093/jat/bku005>.

APÊNDICE A - Artigo com resultados da tese

Electrochimica Acta 484 (2024) 144051



Contents lists available at ScienceDirect

Electrochimica Acta

journal homepage: www.journals.elsevier.com/electrochimica-acta



Voltammetric study and determination of the new psychoactive substances 25H-NBOH and 25B-NBOH in synthetic urine and blotter paper samples using a composite electrode

Wellington Alves de Barros^a, Anabel Santos Lourenço^b, Mateus Ferreira Amaral^b, Marilza Castilho^{b,*}, Ailton José Terezo^b, Ângelo de Fátima^{a,*}

^a Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brazil

^b Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, 78060-900, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Synthetic drugs
Forensic
Phenylethylamine
NBOH
NBOMe

ABSTRACT

The dramatic escalation in the quantity of new synthetic drugs in recent years has prompted the pursuit of novel methods for identifying and quantifying these substances. Notably among them are the substituted phenethylamines known as NBOHs and NBOMes. Electrochemical study and quantification of new psychoactive substances (NPS) 25H-NBOH and 25B-NBOH in synthetic urine and synthetic blotting papers are presented using differential pulse voltammetry (DPV) on a composite electrode (CE) made of graphite and polycaprolactone (PCL). Based on the cyclic voltammetry (CV) results, we propose that the drug oxidation mechanism comprises two main steps. Initially, it involves the oxidation of the secondary amine, necessitating the removal of one electron from the amino-nitrogen atom, leading to dealkylation. Subsequently, bromine or methoxy substitution takes place. Under the optimized experimental conditions for the differential pulse voltammetry (DPV) studies, analytical curves were obtained in the range of 100 to 800 ng mL⁻¹ for 25H-NBOH and 100 to 700 ng mL⁻¹ for 25B-NBOH ($r^2 = 0.999$), with detection limits of 19 ng mL⁻¹ and 23 ng mL⁻¹, respectively, and quantification limits of 64 ng mL⁻¹ and 76 ng mL⁻¹. The proposed method was employed for quantification of the drugs in synthetic urine and synthetic blotting papers, with recovery values between 95 % and 106 %, demonstrating no interference from the matrices.

1. Introduction

The use of drugs with hallucinogenic and stimulant effects has been increasing every year, resulting in physical, emotional, and social impacts, particularly among the younger population. In addition to traditional narcotics, new psychoactive substances (NPS) have emerged and become a challenge for forensic drug analysis in recent years [1–4].

The United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) defines these NPS as molecules primarily designed for illicit purposes, to circumvent the control measures applied to substances already under control, from which they derive or mimic the effects [5]. According to the UNODC report, as of 2023, a total of 64 NPS have been recorded [6]. The increasing number of these drugs is attributed to the wide variety of chemical structures of these compounds and the ease of modifying their structures, which leads to a growing number of NPS each year and makes it challenging to control the illicit drug market [7,8].

Most phenethylamines function as central nervous system stimulants or hallucinogens. These substances mediate the actions of dopamine, noradrenaline, and/or serotonin, causing effects like traditional drugs such as cocaine and ecstasy. These psychedelics function as intermediates of specific activities of serotonin receptors and produce hallucinations [6].

Among the main NPS, we can mention the NBOHs, compounds synthesized as derivatives of 2C-X phenethylamines, which are closely related to the NBOMe family. However, NBOHs have a hydroxyl group at the 2 position of the B ring, as shown in Fig. 1. Phenethylamines, such as NBOHs and NBOMes, are agonists of serotonin receptors (5-HT, 5-hydroxytryptamine), and the ortho-methoxy or hydroxy group attached to the N-benzyl moiety, leads to a higher affinity for the 5HT receptor for these substances [2,7,9,10] NBOH compounds, such as 25B-NBOH, 25C-NBOH, 25E-NBOH, and 25H-NBOH can be easily purchased online at a low cost. These substances are commonly administered

* Corresponding authors.

E-mail addresses: marilza.terezo@ufmt.br (M. Castilho), adefatima@qui.ufmg.br (Â. de Fátima).

<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2024.144051>

Received 23 December 2023; Received in revised form 2 March 2024; Accepted 3 March 2024

Available online 4 March 2024

0013-4686/© 2024 Elsevier Ltd. All rights reserved.

APÊNDICE B - Artigos publicados na temática da tese ou em colaboração



European Journal of Pharmacology

Volume 955, 15 September 2023, 175926


Psychoactive substances 25H-NBOMe and 25H-NBOH induce antidepressant-like behavior in male rats

Barbara G. Ferri^a, Cintia O. de Novais^a, Raquel S. Bonani^b, Wellington A. de Barros^c, Ângelo de Fátima^c, Fabiana C. Vilela^d, Alexandre Giusti-Paiva^{a,e}  

Show more 

 Share  Cite

<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2023.175926> 

[Get rights and content](#) 

Abstract

Ring-substituted phenethylamines are believed to induce psychedelic effects primarily by interacting with 5-hydroxytryptamine 2 (5-HT_{2A}) receptors in the brain. We assessed the effect of the psychedelic substances 25H-NBOMe and 25H-NBOH on the depressive-like behavior of male adult rats. Naive Wistar rats were divided into groups to assess the effects of different doses (0.1 mg/kg, 1 mg/kg, and 3 mg/kg) of 25H-NBOMe and 25H-NBOH. The substances were administered intraperitoneally and the hallucinogenic properties were evaluated using the head twitch response test (HTR). Additionally, we assessed their locomotor activity in the open field test (OFT) and depressive-like behavior in the forced swimming test (FST). Our data demonstrated that all doses of synthetic psychedelic substances evaluated exhibited hallucinogenic effects. Interestingly, we observed that both 25H-NBOMe and 25H-NBOH produced a significantly greater motivation to escape in the FST, compared to the control group. Furthermore, we found no significant differences in locomotor activity during the OFT, except for the dose of 3 mg/kg, which induced a reduction in locomotion. This study provides new insights into a potential psychedelic substance, specifically by demonstrating the previously unknown antidepressant properties of a single dose of both 25H-NBOMe and 25H-NBOH. These findings contribute to the ongoing progress of experimental psychiatry toward developing safe and effective clinical practices in the field of psychedelics research.

Introduction

Major depressive disorder (MDD) is a chronic and severe psychiatric disorder characterized by episodes of depressive mood and anhedonia. It has a significant impact on both society and the economy, with a higher prevalence in individuals of productive age (Gururajan et al., 2019; Tolentino and Schmidt, 2018). Unfortunately, the current antidepressants available for clinical treatment of MDD are partially ineffective, with up to 33–45% of the patients considered treatment-resistant (Cipriani et al., 2018; Shelton et al., 2010) highlighting the need for new and improved treatments. In recent years, psychedelic-assisted therapy research has experienced a renaissance, exploring the



Contents lists available at ScienceDirect

Heliyon

journal homepage: www.cell.com/heliyon

Neurotoxic effects of hallucinogenic drugs 25H-NBOMe and 25H-NBOH in organotypic hippocampal cultures

Larissa Marceley Gomes Cassiano^{a,b}, Marina da Silva Oliveira^a,
Wellington Alves de Barros^c, Ângelo de Fátima^c, Roney Santos Coimbra^{a,*}

^a Neurogenômica, Imunopatologia, Instituto René Rachou, Fiocruz, Belo Horizonte, MG, 30190-002, Brazil

^b Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brazil

^c Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

25H-NBOMe
25H-NBOH
Phenethylamines
Organotypic hippocampal culture
Neurotoxicity
Neurogenesis

ABSTRACT

Introduction: NBOMes and NBOHs are psychoactive drugs derived from phenethylamines and have hallucinogenic effects due to their strong agonism to serotonin 5-HT_{2A} receptors. Although cases of toxicity associated with the recreational use of substituted phenethylamines are frequently reported, there is a lack of information on the possible neurotoxic effects of NBOMe and NBOH in the brain hippocampus, a major neurogenesis region.

Objectives: This study aimed at assessing the phenotypic and molecular effects of prolonged exposure of the hippocampus to the drugs 25H-NBOMe and 25H-NBOH.

Methods: The *ex vivo* organotypic culture model of hippocampal slices (OHC) was used to investigate, by immunofluorescence and confocal microscopy, and transcriptome analyses, the mechanisms associated with the neurotoxicity of 25H-NBOMe and 25H-NBOH.

Results: Reduction in the density of mature neurons in the OHCs occurred after two and seven days of exposure to 25H-NBOMe and 25H-NBOH, respectively. After the withdrawal of 25H-NBOMe, the density of mature neurons in the OHCs stabilized. In contrast, up to seven days after 25H-NBOH removal from the culture medium, progressive neuron loss was still observed in the OHCs. Interestingly, the exposure to 25H-NBOH induced progenitor cell differentiation, increasing the density of post-mitotic neurons in the OHCs. Corroborating these findings, the functional enrichment analysis of differentially expressed genes in the OHCs exposed to 25H-NBOH revealed the activation of WNT/Beta-catenin pathway components associated with neurogenesis. During and after the exposure to 25H-NBOMe or 25H-NBOH, gene expression patterns related to the activation of synaptic transmission and excitability of neurons were identified. Furthermore, activation of signaling pathways and biological processes related to addiction and oxidative stress and inhibition of the inflammatory response were observed after the period of drug exposure.

Conclusion: 25H-NBOMe and 25H-NBOH disrupt the balance between neurogenesis and neuronal death in the hippocampus and, although chemically similar, have distinct neurotoxicity mechanisms.

* Corresponding author. Neurogenômica, Imunopatologia, Instituto René Rachou, Fiocruz. Av. Augusto de Lima, 1715, Belo Horizonte, MG, 30190-002, Brazil.

E-mail address: roney.coimbra@fiocruz.br (R.S. Coimbra).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17720>

Received 29 December 2022; Received in revised form 26 April 2023; Accepted 26 June 2023


Available online 28 June 2023

2405-8440/© 2023 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



Research report

Exposure to the psychedelic substance 25 H-NBOMe disrupts maternal care in lactating rats and subsequently impairs the social play behavior of the offspring

Lidia M. Melo^a, Wellington A. de Barros^b, Ângelo de Fátima^b, Fabiana C. Vilela Giusti^c, Alexandre Giusti-Paiva^d  [Show more](#)  Share  Cite<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2024.114924> [Get rights and content](#) 

Abstract

Given the critical role of maternal care in the neurodevelopment of offspring, this study aimed to investigate the effects of the psychedelic substance 25 H-NBOMe on maternal behavior in lactating rats and its subsequent impact on the social and neurodevelopmental behavior of the offspring. We administered two different dosages of 25 H-NBOMe (0.3 mg/kg and 1.0 mg/kg; i.p.) to lactating rats and observed changes in maternal behaviors, such as nest-building and pup retrieval, and in offspring behaviors, including social play. Behavioral assessments were complemented by physiological measurements to rule out general health or nutritional decline. 25 H-NBOMe significantly disrupted maternal behaviors, including nest-building and pup retrieval, without affecting the weight of dams or offspring. Offspring of exposed dams exhibited reduced social play behavior. Higher doses led to more pronounced disruptions, while lower doses, despite not visibly affecting maternal behavior, still impacted offspring behavior, suggesting potential direct effects of 25 H-NBOMe. The study highlights the potential risks associated with the use of 25 H-NBOMe during lactation, emphasizing its detrimental impact on maternal care and offspring development. These findings contribute to understanding the neurobiological effects of psychedelic substances during critical developmental periods and underscore the importance of avoiding their use.

Introduction

The use of hallucinogenic substances, especially those from the 25X-NBOMe series, has seen a surge in recent years. These compounds are N-2-methoxybenzyl analogues of the respective 2C-X substituted phenethylamines. Acting as partial agonists at the 5-HT_{2A} serotonin receptor, their increasing popularity and potent psychedelic effects have raised concerns regarding their potential impact on human health and behavior [2], [3]. Among the NBOMe compounds, while 25I-NBOMe has garnered considerable attention due to its association with adverse outcomes [4], [5], 25 H-NBOMe remains less explored [6], [7]. This gap in our understanding is noteworthy, especially given the potential

Full Text

Help

Log in / register

Issue 43, 2023 Previous | Next

 From the journal:
Analytical Methods

Comprehensive detection of lysergic acid diethylamide (LSD) in forensic samples using carbon nanotube screen-printed electrodes †



[Anne Alves Macedo](#),^a [Luciano C. Arantes](#),^{id} ^b [Dilton Martins Pimentel](#),^c [Tifany de Deus Melo](#),^d [Larissa Magalhães de Almeida Melo](#),
^{id} ^a [Wellington Alves de Barros](#), ^{id} ^e [Cláudia Mancilha Rocha](#), ^{id} ^e [Ângelo de Fátima](#) ^{id} ^e and [Wallans Torres Pio dos Santos](#) ^{id}

^{a,c}

[Author affiliations](#)

Abstract

Lysergic acid diethylamide (LSD) is a prevalent psychoactive substance recognized for its hallucinogenic properties, often encountered in blotter papers for illicit consumption. Given that LSD ranks among the most widely abused illicit drugs globally, its prompt identification in seized samples is vital for forensic investigations. This study presents, for the first time, an electrochemical screening method for detecting LSD in forensic samples, utilizing a multi-wall carbon nanotube screen-printed electrode (SPE-MWCNT). The LSD detection process was optimized on SPE-MWCNT in a phosphate buffer solution (0.1 mol L⁻¹, pH 12.0) using square wave voltammetry (SWV). The combined use of SPE-MWCNT with SWV displayed robust stability in electrochemical responses for both qualitative (peak potential) and quantitative (peak current) LSD assessment, with a relative standard deviation (RSD) of less than 5% across the same or different electrodes ($N=3$). A linear detection range was established between 0.16 and 40.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.998$), featuring a low limit of detection (LOD) of 0.05 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Interference studies with twenty-three other