



FABRICAÇÃO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS PORTÁTEIS E DE BAIXO CUSTO EM PLATAFORMA DE PAPEL PARA ANÁLISE DE CLOROQUINA E HIDROXICLOROQUINA

Palavras-Chave: Sensores eletroquímicos portáteis, eletroanalítica, cloroquina, hidroxicloroquina

Autores/as:

PAULA CRISTINE ROCHA CORSATO (IQ-UNICAMP)

Prof. Dr. WILLIAM REIS DE ARAUJO (IQ-UNICAMP)

INTRODUÇÃO:

A cloroquina e seu similar, hidroxicloroquina, são compostos aromáticos da classe das 4-aminoquinolonas. Estes fármacos são amplamente utilizados no tratamento de afecções reumáticas e dermatológicas, malária, artrite ou lúpus. Com a epidemia da COVID-19 causada pelo vírus SARS-CoV-2, popularmente conhecido como novo Coronavírus, surgido em dezembro de 2019, cujo surto mundial tem nos assolados até o presente momento, diversos fármacos têm sido avaliados para o tratamento dos efeitos adversos da infecção pelo SARS-CoV-2, dentre eles estão a cloroquina e a hidroxicloroquina. No entanto, não há nenhuma comprovação científica da eficácia destes fármacos em estudos *in vivo*^[1], além de já ser bem conhecido na literatura o fato de a cloroquina possuir diversos efeitos colaterais à saúde dos pacientes, sendo alguns irreversíveis^[2].

Sensores eletroquímicos de baixo custo fabricados em substratos de papel e/ou poliméricos já provaram sua potencialidade para uma ampla gama de aplicações^[3-6], dentre elas, a sua importância na indústria farmacêutica, e nosso grupo possui a expertise de desenvolvimento de métodos analíticos nestes tipos de plataformas^[3,7,8].

O desenvolvimento de métodos que propiciem análises “*in loco*” facilita a obtenção de resultados de forma mais rápida e possibilita a tomada de decisão diretamente no local de necessidade. Sensores químicos de baixo custo fabricados em plataformas portáteis vêm obtendo destaque nos últimos anos como uma ferramenta analítica versátil para este tipo de análise, em diversas espécies relevantes à saúde humana, principalmente em regiões carentes ou distantes de grandes centros urbanos.

Em vista dos possíveis efeitos adversos à saúde produzidos pela automedicação e uso de altas dosagens, é importante a obtenção de métodos de análises de amostras de formulações farmacêuticas para controle de qualidade e de amostras de biofluidos para acompanhamentos clínicos. Assim, este projeto visou desenvolver sensores portáteis baseados em carbono em substratos acessíveis, para a realização de estudo das propriedades redox e para o desenvolvimento

de um método de análise portátil e de custo reduzido para a detecção de cloroquina e hidroxicloroquina.

METODOLOGIA:

FABRICAÇÃO DOS DISPOSITIVOS ELETROQUÍMICOS: A fabricação dos eletrodos portáteis é uma etapa importante para o projeto, pois tais dispositivos foram utilizados para todas as análises deste trabalho. As principais etapas de fabricação dos sensores estão esquematicamente apresentadas na Figura 1.



Figura 1. Principais etapas do processo de fabricação dos eletrodos impressos portáteis utilizando tintas condutivas de carbono e Ag/AgCl em substrato de fenolite.

As placas de fenolite (circuito impresso) foram previamente cortadas em tamanho 2,5 x 2,5 cm e removida a camada de cobre de suas faces por meio de imersão em solução de perclorato de ferro por cerca de 30 minutos e lavadas abundantemente com água (etapa 1). Na sequência, foram aplicados adesivos com o molde do eletrodo a ser feito (etapa 2). O desenho deste molde foi feito no CorelDraw e os adesivos foram padronizados com auxílio de uma impressora de corte a laser e posteriormente aplicados às placas. Após a aplicação do molde, foi realizada a pintura dos eletrodos de trabalho e contra eletrodo com tinta de carbono, enquanto no eletrodo de referência foi utilizada a tinta de Ag/AgCl (etapa 3). Com o auxílio de uma espátula foi removido o excesso de tinta de forma a manter a espessura da camada padronizada e igual ao do adesivo. Após 30 minutos, foram retirados os moldes adesivos e as placas foram levadas à estufa a 100 °C por 30 minutos para a etapa de cura das tintas (etapa 4). Passado esse tempo, aplicou-se a tinta de prata nas extremidades do eletrodo para facilitar a conexão aos terminais do potenciostato (etapa 5) e foram coladas uma fita adesiva 3M como barreira para delimitar a área dos eletrodos e evitar que a solução chegue aos contatos elétricos (etapa 6).

EQUIPAMENTOS: Para as análises eletroquímicas utilizou-se o potenciostato portátil Sensit Smart, e também o PGSTAT 2004 (Metrohm), além de balança analítica, impressora de corte com Laser de CO₂ (MultiVisi) e pHmetro.

ANÁLISES ELETROQUÍMICAS: As análises realizadas nesse projeto teve duas principais subdivisões: caracterização do comportamento redox dos fármacos por voltametria cíclica (VC) e desenvolvimento de método analítico utilizando a voltametria de onda quadrada (VOQ). Os estudos eletroquímicos realizados envolveram a avaliação do efeito do pH na resposta voltamétrica, estudo da natureza do transporte de massa dos fármacos no dispositivo desenvolvido por meio da alteração da velocidade de varredura, construção da curva analítica, estudo de repetibilidade e reprodutibilidade. Foi realizada a análise da cloroquina em amostra de urina sintética preparada de acordo com Mendes e colaboradores^[9] e análise da hidroxicloroquina em produto farmacêutico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Inicialmente, avaliamos a potencialidade do sensor desenvolvido para a detecção da cloroquina em diferentes valores de pH, Figura 2.

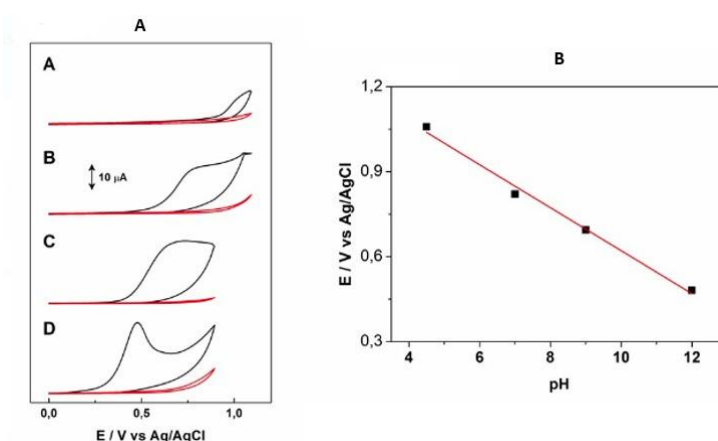


Figura 2. Estudo do efeito do pH na resposta voltamétrica da cloroquina. A) Voltamogramas Cíclicos registrados em meio de (a) tampão acetato pH = 4,5, (b) tampão fosfato pH = 7,0, (c) tampão borato pH = 9,0 e (d) tampão fosfato pH = 12,0. Todos os eletrólitos estavam na concentração de 0,1 mol/L (linhas vermelhas) e a cloroquina 1 mmol/L (linhas pretas) registrados a uma velocidade de varredura de 50 mV/s. A escala de 10 µA aplica-se a todos os gráficos. B) Curva de potencial de pico em função do pH.

Na Figura 2, temos o estudo do pH, onde é possível notar que o pico de oxidação da cloroquina se desloca para potenciais menores conforme o meio fica mais alcalino. Na Figura 2B, observa-se uma boa correlação entre os valores de potencial de pico em função do pH, apresentando um coeficiente angular de $-0,076$ V/pH, o que denota uma dependência do pH no processo de transferência eletrônica com uma relação próxima de 1:1 entre elétrons e prótons^[10].

Para fins analíticos é interessante que a diferença de potencial aplicada não seja muito elevada, pois quanto maior o potencial, maior a chance de oxidar ou reduzir outras espécies, reduzindo a seletividade do método. Assim, ao garantirmos que o potencial de pico para a detecção da nossa espécie analisada fique por volta de 0,4 V é possível ter uma maior seletividade para as amostras reais. Com isso, o meio básico (pH = 12,0) foi escolhido para as próximas etapas.

Por meio do estudo de velocidade de varredura, encontramos que o processo de oxidação irreversível da cloroquina é controlado por adsorção, uma vez que o coeficiente angular da curva de logaritmo de corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura foi próximo de 1 (0,893). Após o estudo do pH e otimização dos parâmetros instrumentais da técnica de VOQ, foi realizado estudo de repetibilidade para avaliar a possibilidade de realização de medidas consecutivas em um mesmo eletrodo. Para essas análises consecutivas, visando realizar a renovação da superfície eletródica, foi feita uma etapa de limpeza eletroquímica da superfície utilizando a técnica de cronoamperometria aplicando -1,5V durante 180s em uma solução de ácido sulfúrico 0,1 mol/L. Este tratamento apresentou uma eficácia satisfatória, uma vez que o desvio padrão relativo para 10 medidas foi de 9,94%, permitindo que fosse possível a renovação da superfície eletródica para a reutilização dos eletrodos fabricados.

Outro teste de caracterização realizado foi o teste de reprodutibilidade do método de fabricação, onde foram utilizados 10 eletrodos diferentes e realizado apenas uma análise em cada eletrodo. Foi obtido um desvio padrão relativo de 8,73% para este ensaio, o que demonstra uma reprodutibilidade adequada considerando o processo de fabricação manual. Assim, sob as melhores condições analíticas, foram construídas curvas de calibração para eletrodos diferentes (n=3), realizando-se 9 medidas consecutivas em cada eletrodo, alterando a concentração de cloroquina na faixa de 5 µmol/L a 50 µmol/L e fazendo a limpeza com ácido sulfúrico entre cada medida, vide Figura 3.

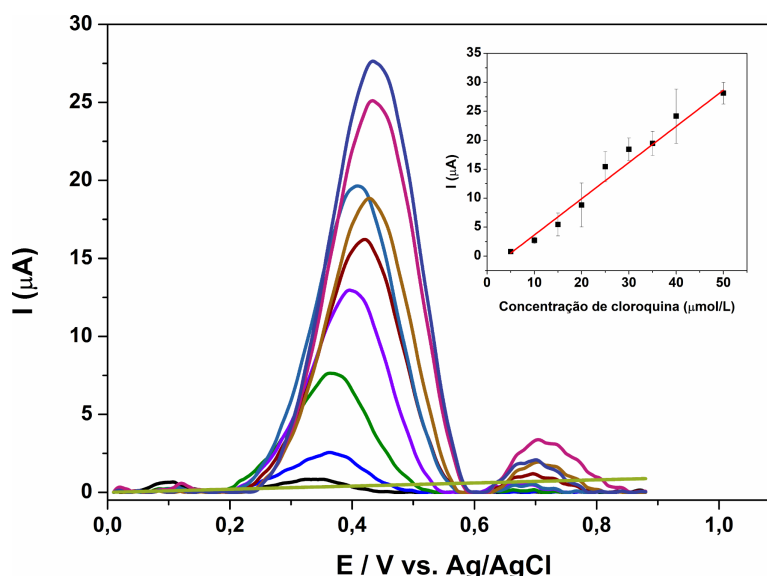


Figura 3. Voltamogramas de Onda Quadrada variando a concentração de cloroquina em um mesmo eletrodo em: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 e 50 µmol/L. Curva analítica construída com os valores de corrente de pico em função da concentração de cloroquina para 3 eletrodos diferentes. Equação da reta: $y = (-2,599 \pm 0,3558) + (0,625 \pm 0,030)x$.

Avaliamos a seletividade do método em relação a outros compostos biológicos comumente presente em biofluidos humanos, como o ácido ascórbico, ácido úrico, glicose e creatinina. Foi realizado ensaios na proporção de 1:1 (20 µmol/L) do interferente para a cloroquina e não foi evidenciada variação de corrente de pico maior que 10%. Na sequência, para avaliar a potencialidade do método, foi realizada a análise de cloroquina em amostra de urina sintética pelo método de adição de padrão. As análises de urina sintética com a cloroquina visavam simular, inicialmente, amostras de indivíduos que fizeram a ingestão do medicamento e cuja excreção ocorre

majoritariamente pela urina. Para tanto, realizamos a adição de uma solução padrão com 20 $\mu\text{mol/L}$ de cloroquina em 4 amostras e realizamos os ensaios de recuperação. O valor médio de recuperação foi de 97,25 %, o que ressalta a adequada acurácia do método.

CONCLUSÕES:

O presente projeto de pesquisa visou a fabricação de sensores eletroquímicos portáteis e de baixo custo para caracterizações redox e quantificação dos fármacos cloroquina e hidroxicloroquina em amostras farmacêuticas e de urina sintética. A caracterização eletroquímica da cloroquina demonstrou que o pH influencia no processo de oxidação, sendo que quanto mais alcalino o meio, menor é o potencial que ocorre a oxidação, gerando uma curva de potencial de pico em função de pH com coeficiente angular de $-0,076\text{V/pH}$, confirmando uma relação de 1:1 entre o número de prótons e elétrons envolvidos no processo de transferência eletrônica. Já no estudo de velocidade de varredura, verificou-se que o processo de oxidação da cloroquina é irreversível em toda a faixa de velocidades avaliadas e que o transporte de massa é controlado majoritariamente pela adsorção.

O método proposto apresentou uma reprodutibilidade e repetibilidade adequada, uma vez que os desvios padrões relativos obtidos foram 8,73% e 9,94%, respectivamente. A sensibilidade do método foi bastante satisfatória, sendo possível construir uma curva analítica para a cloroquina na faixa de concentrações de 5 $\mu\text{mol/L}$ a 50 $\mu\text{mol/L}$. Testes de adição e recuperação em amostra de urina sintética demonstraram a adequada acurácia do método desenvolvido.

BIBLIOGRAFIA

- [1] R. E. Ferner, J. K. Aronson, *BMJ* **2020**, m1432.
- [2] A. C. Lacava, *Arq. Bras. Oftalmol.* **2010**, 73, 384–389.
- [3] W. R. de Araujo, T. R. L. C. Paixão, *Analyst* **2014**, 139, 2742.
- [4] C. Zhao, M. M. Thuo, X. Liu, *Sci. Technol. Adv. Mater.* **2013**, 14, 054402.
- [5] E. W. Nery, L. T. Kubota, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, 405, 7573–7595.
- [6] E. J. Maxwell, A. D. Mazzeo, G. M. Whitesides, *MRS Bull.* **2013**, 38, 309–314.
- [7] W. R. de Araujo, C. M. R. Frasson, W. A. Ameku, J. R. Silva, L. Angnes, T. R. L. C. Paixão, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2017**, 56, 15113–15117.
- [8] T. G. Silva, W. R. de Araujo, R. A. A. Munoz, E. M. Richter, M. H. P. Santana, W. K. T. Coltro, T. R. L. C. Paixão, *Anal. Chem.* **2016**, 88, 5145–5151.
- [9] MENDES, Leticia Francine et al. Forensic electrochemistry: Electrochemical study and quantification of xylazine in pharmaceutical and urine samples. *Electrochimica Acta*, v. 295, p. 726-734, 2019.
- [10] BRETT, Ana Maria Coelho Ferreira Oliveira; BRETT, Christopher Michael Ashton. *Electroquímica: princípios, métodos e aplicações*. Coimbra: Almedina, 1996.