



**Universidade Federal de
Uberlândia Instituto de Química
Programa de Pós Graduação em
Química**

Mayane Sousa Carvalho

**Uso de eletrodos a base de carbono impressos em 3D para
a detecção eletroquímica de hidroxiquina em
formulações farmacêuticas e em águas**

Uberlândia-MG

2023

Mayane Sousa Carvalho

**Uso de eletrodos a base de carbono
impressos em 3D para a detecção
eletroquímica de hidroxiclороquina em
formulações farmacêuticas e em águas**

Dissertação de mestrado
apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Química da
Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito à
obtenção do título de Mestre em
Química Analítica.

Orientador: Dr. Rodrigo Alejandro Abarza
Muñoz

Coorientador: Dr. Iranaldo Santos da Silva

Área de concentração: Química Analítica

Uberlândia-MG

2023

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

C331
2023

Carvalho, Mayane Sousa, 1996-
Uso de eletrodos a base de carbono impressos em 3D
para a detecção eletroquímica de hidroxicloroquina em
formulações farmacêuticas e em águas [recurso
eletrônico] / Mayane Sousa Carvalho. - 2023.

Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz .
Coorientador: Iranaldo Santos da Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.173>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Química. I. , Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, 1980-
, (Orient.). II. Silva, Iranaldo Santos da, 1979-
, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia.
Pós-graduação em Química. IV. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

“Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima.”

Louis Pasteur



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 51 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 363, PPGQUI				
Data:	Quinze de março de dois mil e vinte e três	Hora de início:	13:30	Hora de encerramento:	15:40
Matrícula do Discente:	12212QMI005				
Nome do Discente:	Mayane Sousa Carvalho				
Título do Trabalho:	"Uso de eletrodos a base carbono impressos em 3D para a detecção eletroquímica de hidroxiquinona em formulações farmacêuticas e em águas"				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Eletroquímica Aplicada				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	"Novos materiais e estratégias para a produção de sensores eletroquímicos de alto desempenho"				

Reuniu-se, por webconferencia link <https://meet.google.com/sgr-jrkb-wxb?hs=224> a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Sidnei Gonçalves Silva, da Universidade Federal de Uberlândia; Renata Pereira Alves, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dra. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu a Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Alejandro Abarza Munoz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 15/03/2023, às 15:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sidnei Gonçalves da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 15/03/2023, às 15:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Pereira Alves Balvedi, Usuário Externo**, em 15/03/2023, às 15:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4318565** e o código CRC **D7BED61B**.

Dedico esta dissertação de mestrado aos meus pais, Francisco Douglas e Simone de Fátima que, com suas histórias de vida cheias de batalhas superadas, me ensinaram a nunca desistir. Dedico também ao meu estimado orientador, Rodrigo Muñoz que sempre me incentivou e acreditou em mim mais do que eu mesma. Sobretudo, dedico a Deus, que é a profundidade da riqueza, sabedoria e do conhecimento.

Agradecimentos

- À Deus, pelo dom gratuito da vida e pelas bênçãos sem medidas que ele tem derramado sobre minha vida que vão além do que mereço;
- Aos meus pais, Francisco Douglas e Simone de Fátima que sempre me incentivaram a estudar e não mediram esforços para me ajudar nesta caminhada acadêmica;
- Ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo por todo incentivo, investimento e ensinamentos compartilhados. Não me restam dúvidas de que, sem a ajuda dele eu não chegaria até aqui;
- Sou grata a todos os meus colegas de laboratório, Raquel, Lucas, Jian, Gilvana, Daniel, Nélio, Amanda, Tiago, David, Anastácio, Ana, Diele e Waleska pelos incentivos, parcerias e conhecimentos compartilhados. Destaco dentre estes o Lucas e a Raquel que foram indispensáveis para a conclusão da presente pesquisa. Como sou grata a vocês;
- Aos meus amigos e intercessoras fiéis por todos os incentivos e palavras motivacionais que sempre me encorajaram quando pensei em desistir;
- Sou grata a todos meus familiares, aos meus irmãos que tanto amo. Dedico essa vitória para honra da nossa família;
- À CAPES, CNPq e FAPEMIG, por todo investimento em minha pesquisa.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Uso e detecção da Hidroxicloroquina (HCQ).....	16
1.2 Métodos eletroanalíticos	17
1.3 Manufatura Aditiva e suas aplicações na eletroquímica	18
2. OBJETIVOS	22
3. PARTE EXPERIMENTAL	23
3.1 Reagentes e amostras	23
3.2 Instrumentação para medições eletroquímicas e espectrofotométricas (UV-vis) ...	24
3.3 Fabricação dos eletrodos CB-PLA impressos em 3D	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Efeito do tratamento eletroquímico de superfície sobre oxidação eletroquímica do HCQ.....	27
4.2 Estudo de pH e da velocidade de varredura	31
4.3 Otimização do método por Voltametria de Onda Quadrada	34
4.4 Determinação de HCQ em amostras farmacêuticas e de água da torneira	41
5. CONCLUSÃO	48
6. PERSPECTIVAS DO TRABALHO	49
7. PRODUÇÃO CIENTÍFICA	49
8. REFERÊNCIAS	50

Resumo

Embora estudos tenham demonstrado a inatividade da hidroxicloroquina (HCQ) em relação ao novo corona vírus SARS-CoV-2, este composto foi um dos mais prescritos por organizações médicas para o tratamento de pacientes hospitalizados durante a pandemia da COVID-19. Em resultado disso, o HCQ tem sido considerado como um potencial contaminante emergente em ambientes aquáticos. Neste contexto, propomos um dispositivo eletroquímico completo composto por célula e eletrodo de trabalho fabricado pela tecnologia de manufatura aditiva (impressão em 3D) para monitoramento de HCQ. Para isto, um eletrodo de trabalho impresso em 3D feito de PLA contendo o condutor negro de fumo (conhecido como carbon black), montado numa célula impressa em 3D, usando voltametria de onda quadrada (VOQ) para a determinação rápida e sensível de HCQ. Após um simples procedimento de ativação de superfície, o sensor impresso em 3D proposto mostrou uma faixa linear para a detecção do HCQ ($0,4-7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) com um limite de detecção de $0,04 \mu\text{mol L}^{-1}$ e uma precisão de 2,4% ($n = 10$). A aplicabilidade deste dispositivo foi demonstrada para a análise de amostras farmacêuticas e de água. Na recuperação foram atingidos valores entre 99 e 112% para amostras de água da torneira e, além disso, a concentração de valores obtidos para comprimidos farmacêuticos acordados com os valores obtidos por espectrofotometria (região UV) a 95% do nível de confiança. O dispositivo proposto combinado com instrumentação portátil é promissor para a detecção de HCQ no local.

Palavras chaves: FDM, Manufatura Aditiva, Sensores, Eletroanálises, Fabricação de filamentos fundidos.

Abstract

Although studies have demonstrated the inactivity of hydroxychloroquine (HCQ) towards SARS-CoV-2, this compound was one of the most prescribed by medical organizations for the treatment of hospitalized patients during the COVID-19 pandemic. As a result of it, HCQ has been considered as a potential emerging contaminant in aquatic environments. In this context, we propose a complete electrochemical device comprising cell and working electrode fabricated by the additive manufacture technology (3D-printing) for HCQ monitoring. For this, a 3D-printed working electrode made of a conductive PLA containing carbon black assembled in a 3D-printed cell was associated with square wave voltammetry (SWV) for the fast and sensitive determination of HCQ. After a simple surface activation procedure, the proposed 3D-printed sensor showed a linear response towards HCQ detection ($0.4\text{--}7.5\ \mu\text{mol L}^{-1}$) with a limit of detection of $0.04\ \mu\text{mol L}^{-1}$ and precision of 2.4% ($n = 10$). The applicability of this device was shown to the analysis of pharmaceutical and water samples. Recovery values between 99 and 112% were achieved for tap water samples and, in addition, the obtained concentration values for pharmaceutical tablets agreed with the values obtained by spectrophotometry (UV region) at a 95% confidence level. The proposed device combined with portable instrumentation is promising for on-site HCQ detection.

Keywords: FDM, Additive manufacturing, Sensors, Electroanalysis, Fused filament fabrication.

Lista de Abreviaturas e Siglas

3D CB-PLA	Eletrodo de Negro de Fumo e Ácido Polilático Impresso em 3D
AAS	Ácido acetilsalicílico
ABS	Acrilonitrilo Butadieno Estireno
AdSDPV	Voltametria de Pulso Diferencial com Redissolução Adsorptiva
AZI	Azitromicina
BDD	Diamante Dopado com Boro
BR	Britton-Robinson
CB	Negro de fumo
CFN	Cafeína
Ep	Potencial de pico
EPC/CNNS	Eletrodo de pasta de Carbono modificado com Nanofolhas de Nitreto de Carbono
FDM	Modelagem por Deposição Fundida
FFF	Fabricação por Fusão de Filamento
GCE	Carbono Vítreo modificado
GCE-PMPD SAM	Eletrodo de Carbono Vítreo modificado com N,N-bis[(E)-(1-piridil)metilideno]-1,3-propanodiamina monocamada automontada
GCE-PMPDASAM	Eletrodo de Carbono Vítreo modificado com Grafite N,N-bis[(E)-(1-piridil)metilideno]-1,3-propanodiamina monocamada automontada
Gr	Grafeno
HCQ	Hidroxicloroquina
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD	Limite de Detecção
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MWCNT/EPC	Eletrodo de pasta de Carbono modificado com Manotubos de Carbono de Paredes Múltiplas
PA	Poliamida
PB	Polibutileno
PC	Policarbonato
PE	Poliestireno
PLA	Ácido Polilático

PRT	Paracetamol
R	Constante universal dos gases
rGO–TiO ₂ /GCE	Eletrodo de Carbono Vítreo modificado por Nanocompósito e Óxido de Grafeno Reduzido – TiO ₂
SARS-CoV-2	Síndrome Respiratória Aguda Grave 2
SDSMCNTPE	Eletrodo de Pasta de Nanotubo de Carbono Modificado com Dodecil Sulfato de Sódio
T	Temperatura
TNT	2,4,6-trinitrotolueno
v	Velocidade de varredura
VC	Voltametria Cíclica
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial
VPN	Voltametria de Pulso Normal
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X
α	Coefficiente de transferência eletrônica

Lista de Figuras

- Figura 1** Estrutura molecular do HCQ.
- Figura 2** Esquema ilustrativo do funcionamento de uma impressora 3D do tipo FDM
- Figura 3** Imagens reais dos componentes da célula impressa em 3D (vista superior): **(A)** corpo da célula; **(B)** tampa superior; **(C)** tampa inferior; **(D)** parafuso; **(E)** eletrodo de trabalho CB-PLA impressão em 3D; **(F e G)** vista superior e frontal da célula impressa em 3D montada.
- Figura 4** Voltamogramas cíclicos registados para $1 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ usando $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ como eletrólito de suporte, antes (linha preta) e depois (linha vermelha) do tratamento eletroquímico. As linhas tracejadas são os respectivos brancos. Condições voltamétricas: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} incremento de potencial: 5 mV
- Figura 5** Perfis voltamétricos cíclicos obtidos para $28 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ usando o eletrodo CB-PLA impresso 3D antes (linha preta) e depois do tratamento eletroquímico (linha vermelha), utilizando tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$). As linhas tracejadas são os respectivos brancos. Condições voltamétricas: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} incremento de potencial: 5 mV .
- Figura 6** Imagens MEV obtidas **(A)** antes e **(B)** depois da ativação eletroquímica do eletrodo de trabalho CB-PLA impresso em 3D.
- Figura 7** Espectros XPS obtidos **(A)** antes e **(B)** depois da ativação eletroquímica do eletrodo de trabalho CB-PLA impresso em 3D.
- Figura 8** **(A)** Respostas voltamétricas cíclicas obtidas para $28 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ HCQ em tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ de diferentes pHs (linha roxa, $\text{pH} = 6,0$); (linha verde, $\text{pH} = 7,0$); (linha azul, $\text{pH} = 8,0$); (linha vermelha; $\text{pH} = 9,0$); (linha preta, $\text{pH} = 10,0$). **(B)** Relação entre pH e potencial de pico (E_p) para o primeiro (linha preta) e segundo (linha vermelha) processos de oxidação do HCQ. Parâmetros voltamétricos: velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV
- Figura 9** **(A)** Respostas voltamétricas cíclicas obtidas para $28 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ HCQ em Tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,0$) variando as velocidades de varredura ($10\text{--}50 \text{ mV s}^{-1}$). **(B)** Relação do potencial de pico (E_p) em função do $\log v$ para o primeiro (linha preta) e segundo (linha vermelha) processos eletroquímicos

- Figura 10** Relação da resposta de corrente em função da velocidade de varredura para **(A)** primeiro e **(B)** segundo processos eletroquímicos obtidos através de VC na Figura 6 A.
- Figura 11** **(A)** VOQ com correção da linha de base registrada na presença de $3,75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ em tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,0$) para avaliar o efeito da amplitude na corrente de pico. **(B)** corrente de pico vs. amplitude. Demais condições de VOQ: frequência: 30 s^{-1} ; incremento de potencial: 5 mV .
- Figura 12** **(A)** VOQ com correção da linha de base registrada na presença de $3,75 \mu\text{mol L}^{-1}$ HCQ em tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,0$) para avaliar o efeito do incremento de potencial na corrente de pico. **(B)** corrente de pico vs incremento de potencial. Demais condições de VOQ: frequência: 30 s^{-1} ; amplitude: 50 mV .
- Figura 13** **(A)** VOQ com correção da linha de base registrada na presença de $3,75 \mu\text{mol L}^{-1}$ HCQ em tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,0$) para avaliar a influência da frequência na corrente de pico. **(B)** corrente de pico vs. frequência. Demais condições de VOQ: amplitude: 50 mV ; incremento de potencial: 5 mV .
- Figura 14** **(A)** Respostas por VOQ com correção da linha de base obtidas para concentrações crescentes ($0,4\text{--}15 \mu\text{mol L}^{-1}$) de HCQ usando $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ de Tampão BR ($\text{pH} = 9,0$) em eletrodos CB-PLA impressos em 3D e respectivo gráfico de calibração **(B)**. Condições VOQ: amplitude = 70 mV ; incremento de potencial = 4 mV ; frequência = 30 s^{-1} .
- Figura 15** Voltamogramas cíclicos registrados para $1 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ usando $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl como eletrólito de suporte, antes (linha preta) e depois (linha vermelha) da construção da curva de calibração de HCQ. As linhas tracejadas são os brancos da análise. Condições voltamétricas: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; incremento de potencial: 5 mV .
- Figura 16** **(A)** Respostas por VOQ com correção da linha de base para medições sucessivas ($n = 10$) de $3,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ e a respectiva variação de corrente de pico para replicações sucessivas **(B)**.

- Figura 17** Variação da corrente de pico do HCQ na presença de espécies interferentes, paracetamol (PRT), cafeína (CAF), ácido acetilsalicílico (ACS) e azitromicina (AZI), usando a relação HCQ/agente interferente (1:1).
- Figura 18** Variação da corrente de pico do HCQ na presença d espécie interferente azitromicina (AZI), usando a relação HCQ/agente interferente (1:1).
- Figura 19** Respostas por VOQ com correção da linha de base para a análise de **(A)** comprimido farmacêutico (amostra A) e **(B)** comprimido farmacêutico (amostra B) diluídas em Tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,0) antes (eletrólito suporte, linha tracejada) e após a adição de amostra (linha vermelha) e respectivas concentrações crescentes de HCQ (linhas verde, azul escuro e azul claro). Inserido: os respectivos gráficos de calibração. Condições VOQ: amplitude = 70 mV; potencial de passo = 4 mV; frequência = 30 s^{-1} .
- Figura 20** Respostas por VOQ com correção da linha de base para a análise de **(A)** Amostra de água da torneira fortificada (amostra A) e **(B)** Amostra de água da torneira fortificada (amostra B) diluídas em Tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,0) antes (eletrólito suporte, linha tracejada) e após a adição de amostra (linha vermelha) e respectivas concentrações crescentes de HCQ (linhas verde, azul escuro e azul claro). Inserido: os respectivos gráficos de calibração. Condições VOQ: amplitude = 70 mV; potencial de passo = 4 mV; frequência = 30 s^{-1} .

Lista de Tabelas

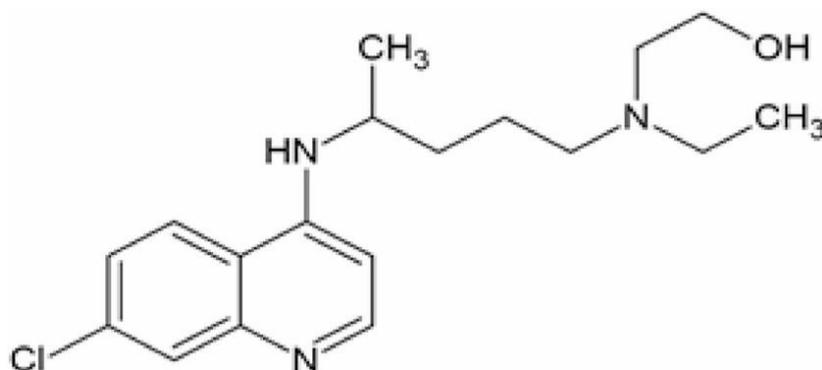
- Tabela 1** Condições de impressão para fabricar os eletrodos CB-PLA
- Tabela 2** Faixas estudadas e valores otimizados selecionados para a detecção de 3,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ por VOQ.
- Tabela 3** Parâmetros analíticos obtidos para determinação de HCQ pelo sensor CB/PLA impresso em 3D proposto.
- Tabela 4** Resultados (média \pm SD) obtidos para determinação de HCQ em amostras farmacêuticas por VOQ usando o eletrodo CB-PLA impresso em 3D e por espectrofotometria (região UV).
- Tabela 5** Resultados (média \pm SD) obtidos para determinação de HCQ em amostras de água da torneira por VOQ usando eletrodo CB-PLA impresso em 3D.
- Tabela 6** Comparação do desempenho analítico obtido usando eletrodo CB/PLA impresso em 3D com outros sensores eletroquímicos relatados na literatura para determinação de HCQ.

1. Introdução

O medicamento Hidroxicloroquina (HCQ), assim como a cloroquina, pertence à classe 4-aminoquinolina, este último por sua vez é extraído da cinchona (*Cinchona pubescens*) e inicialmente foi usado como antimalárico no período da Segunda Guerra Mundial[1]. Em 1950 a cloroquina passou a ser comercializada e o uso elevado de sua dosagem foi empregado no tratamento do lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide. No ano de 1955 o HCQ, derivado da cloroquina porém menos tóxico, foi introduzido no mercado para o tratamento de doenças crônicas da pele e doenças do colágeno [26–30].

O HCQ, estrutura química mostrada na **Figura 1**, é um composto derivado da cloroquina, que se diferencia pela presença de um grupo hidroxila [8, 9]. Tem sido utilizado como drogas antimaláricas e imunomoduladoras (lúpus eritematoso sistêmico e cutâneo), bem como aplicado em diversas doenças reumáticas devido às suas propriedades anti-inflamatórias [10–14]. Além disso, o HCQ possui propriedades antivirais e, por causa disso, algumas organizações médicas recomendaram seu uso no tratamento do coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) [15–20]. No entanto, efeitos adversos graves, como hipoglicemia, cardiomiopatia, toxicidade gastrointestinal e reações neurológicas têm sido relatados quando esse medicamento é usado no tratamento de pacientes infectados com SARS-CoV-2 [18, 21–24]. De fato, embora prescrito, esse composto não confere proteção contra a infecção por COVID-19, conforme destacado em alguns estudos [25–28].

Figura 1. Estrutura molecular do HCQ



Petrie e demais autores [29] demonstram numa revisão que os sistemas de tratamento de águas e esgoto tradicional não eliminam ou reduzem a concentração de

fármacos em águas tratadas, o que pode ocasionar em teores acima de partes por bilhão destes fármacos em águas de consumo humano. Considerando o possível descarte inadequado de fármacos pela indústria farmacêutica e sociedade, assim como a excreção natural destes de forma inalterada pela população consumidora, a concentração destes contaminantes de preocupação emergente em águas torna-se relevante [30]. No Brasil, o HCQ foi um dos principais fármacos empregados no tratamento SARS-CoV-2 e, portanto, resíduos desta molécula podem ser encontrados em águas naturais e água potável, uma vez que o tratamento tradicional de águas e esgoto pode não ser eficiente para a remoção ou degradação do HCQ [31].

1.1 Uso e detecção da Hidroxicloroquina (HCQ)

O HCQ é administrado como um sulfato conhecido quimicamente como 2-[4-[(7-cloro-4-quinolil)amino]pentil]etilamino]etanol sulfato [26]. Este composto, além de ser metabolizado em dois metabólitos comum com a cloroquina (desetilcloroquina e bidesetilcloroquina), é metabolizado principalmente em N-desetil-hidroxicloroquina e apresenta meia-vida terminal significativamente longa, variando de 30 a 50 dias[3]. Considerando sua ampla utilização durante o cenário de pandemia e que 25% do composto são excretados na forma não metabolizada em urina de acordo com dados farmacocinéticos [3, 32], o HCQ foi reconhecido como um potencial contaminante de preocupação emergente. Portanto, é essencial desenvolver métodos analíticos sensíveis, rápidos e simples para monitorar o HCQ em formulações farmacêuticas e outras matrizes, como em águas.

De acordo com a literatura, métodos cromatográficos e espectrofotométricos são amplamente divulgados para determinação de HCQ [33–38]. Embora esses métodos apresentem precisão e sensibilidade, eles exigem instrumentação cara, uso de grande volume de solventes, análise demorada e algumas vezes de mão de obra especializada. A HCQ é um composto eletroquimicamente ativo e pode ter sua concentração determinada por métodos eletroquímicos, que levam vantagens sobre as técnicas cromatográficas. Métodos eletroquímicos têm sido empregados para detecção de HCQ em diferentes matrizes usando eletrodos convencionais, como o diamante dopado com boro (BDD) e eletrodos de carbono vítreo modificados (GCE) com diversos materiais

como nanocompósito de óxido de grafeno reduzido, dodecil sulfato de sódio, nanofolhas de nitreto de carbono e etc. [39–43].

1.2 Métodos eletroanalíticos

Os métodos eletroanalíticos compreendem um grupo de métodos analíticos quantitativos que se baseiam nas propriedades elétricas das moléculas, como diferença de potencial, reações de oxidação e redução, intensidade de corrente elétrica e outras características decorrentes de interações entre as espécies químicas e eletrodo de trabalho (conhecido como o sensor dos métodos eletroanalíticos), proporcionando uma riqueza informações de um analito de interesse, incluindo sua concentração [44]. Os métodos eletroanalíticos mais comuns são os não-interfaciais (condutimetria e titulações condutimétricas) e os interfaciais que são subdivididos em métodos estáticos (potenciometria, titulações potenciométricas) e dinâmicos com potencial controlado (coulometria, voltametrias, titulações amperométricas, eletrogravimetria) e com corrente constante (titulações colombimétricas e eletrogravimetria) [44, 45].

Os métodos dinâmicos são os mais usados na eletroanalítica e baseiam-se no conceito de alterar continuamente os potenciais aplicados à interface eletrodo-solução e registrar a corrente medida resultante. Dentre estes métodos destacam-se as técnicas voltamétricas devido a sua vasta aplicação em estudos e investigações de analitos. As voltametrias mais aplicadas são a cíclica (VC), onda quadrada (VOQ), pulso diferencial (VPD) e voltametria de pulso normal (VPN) que possuem perfis de acordo com a forma dos sinais de excitação aplicados [46], além de uma vasta aplicação na análise de combustíveis [47–49] controle de qualidade de alimentos [50, 51], monitoramento de medicamentos farmacêuticos [14, 42, 52–54] e assim por diante.

A VC tornou-se uma técnica amplamente usada para estudos eletroquímicos iniciais de novos sistemas e tem se mostrado muito útil na obtenção de informações sobre reações em eletrodo bastante complicadas. A VC proporciona informações variadas como, a transferência de elétrons, cinética, processos reversíveis ou não e possui parâmetros cruciais os potenciais de pico e intensidade da corrente de pico [46]. Enquanto a VC é aplicada para estudos prévios de uma espécie química eletroativa, a VOQ é usada

para estudos mais minuciosos, uma vez que proporciona limites de detecção comparáveis aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas em decorrência dos efeitos da corrente de fundo serem reduzidos e análises serem realizadas à presença de oxigênio dissolvido (desde que o pico voltamétrico seja mais catódico do que o da redução do oxigênio) [55]. A VOQ foi aplicada a vários compostos farmacêuticos devido à baixos limites de detecção, sensibilidade e rapidez, assim este método é promissor para análise de drogas em formulações farmacêuticas, amostras biológicas e águas [42, 45, 54].

1.3 Manufatura Aditiva e suas aplicações na eletroquímica

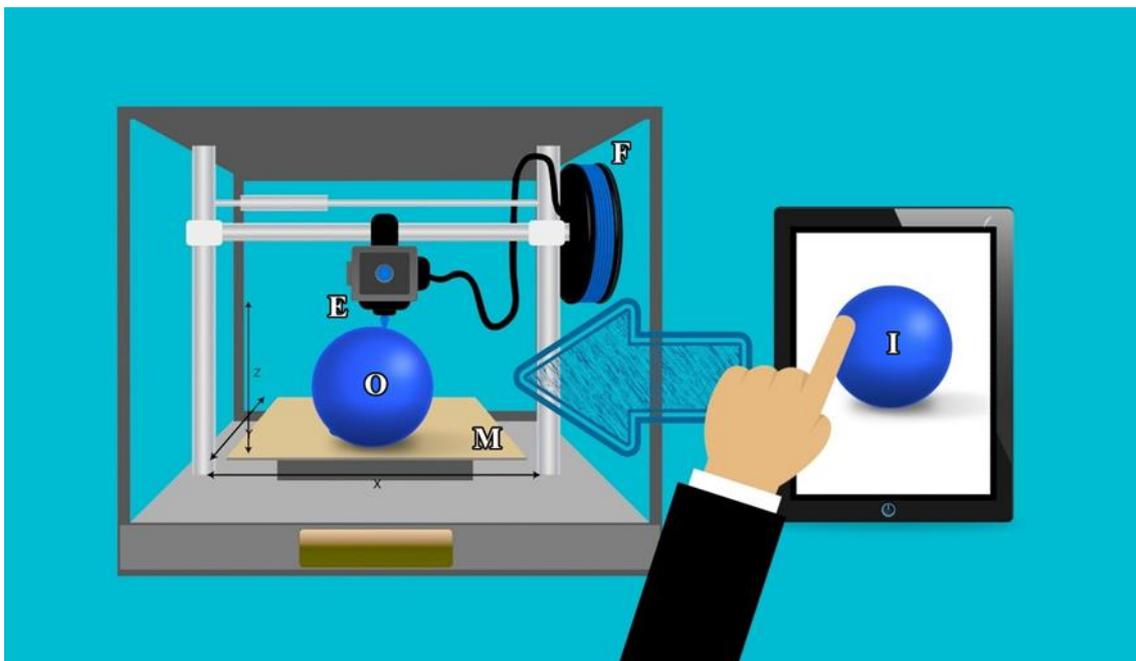
A tecnologia de manufatura aditiva (também associada à impressão 3D) será consolidada como tecnologia líder em numerosos setores num futuro próximo e também é considerada como um dos principais pilares da indústria 4.0 [56]. A impressão 3D vem sendo empregada na indústria de alimentos, construção civil, aeroespacial, automobilística, saúde (medicina e ortopedia), eletrônica entre várias outras áreas. Na química, a impressão 3D também vem sendo empregada desde a construção de equipamentos simples comuns a um laboratório até a fabricação de reatores para a realização de síntese inorgânica ou orgânica com emprego de materiais compatíveis aos solventes empregados[57].

A impressão 3D é definida como uma tecnologia de manufatura aditiva criada para construir objetos tridimensionais. Nesse sentido, a manufatura aditiva é um processo que produz objetos 3D (occos ou preenchidos) pelo depósito da matéria-prima camada por camada [55]. O exemplo mais popular de manufatura aditiva é a alvenaria: a construção de estruturas usando unidades conectadas ou não, como paredes de tijolos. Algumas peças podem ser construídas retirando a matéria-prima, como esculpir um objeto em madeira, técnica conhecida como manufatura subtrativa. Muitas máquinas, como tornos e centros de usinagem, usam controle numérico computadorizado (CNC) para realizar os processos de fabricação subtrativos [58].

Vale destacar que há diferentes técnicas de impressão 3D que empregam materiais diferentes de acordo com o tipo de manufatura, desde a impressão de metais, biomateriais (tecidos, órgãos etc.) a polímeros. O uso de filamentos poliméricos para a manufatura aditiva é, provavelmente, o método mais comum de impressão 3D (conhecido

popularmente por fabricação por fusão de filamento, FFF, ou ainda por modelagem por deposição fundida, FDM) e isso se deve ao baixo custo deste sistema (impressora 3D e material empregado) [59]. A **Figura 2** abaixo apresenta um esquema de funcionamento de uma impressora 3D do tipo FDM onde o laptop mostra a imagem (I) do objeto a ser impresso; (F) o carretel com o filamento usado para a produção do objeto final (O); (E) bico extrusor e (M) representa a mesa de impressão.

Figura 2. Esquema ilustrativo do funcionamento de uma impressora 3D do tipo FDM



Fonte: Pixabay (site com imagens livres para download)

Atualmente, a eletroquímica tem abraçado a inovação da impressão tridimensional (3D), incluindo a aplicação não só em células eletroquímicas, mas também em eletrodos com aplicação para baterias, supercapacitores e sensores eletroquímicos[60–63]. Com o advento da Manufatura Aditiva estes materiais podem ser produzidos nos próprios laboratórios, tornando a fabricação destes mais acessível e simplificada. Nesse sentido, a impressão em 3D, parece ser uma tecnologia promissora para o desenvolvimento de dispositivos eletroquímicos devido às suas características, como prototipagem rápida com produção em larga escala, baixa demanda energética e impressoras 3D acessíveis, especialmente ao usar modelos de FDM ou FFF [61, 64, 65].

No processo FDM, materiais tridimensionais são construídos com filamentos termoplásticos que são aquecidos, extrudados e depositados camada por camada em uma plataforma aquecida [66]. Dentre os filamentos usados destacam-se os termoplásticos como Ácido Polilático (PLA), Acrilonitrilo Butadieno Estireno (ABS), Polibutileno (PB), Policarbonato (PC), Poliamida (PA), e Poliestireno (PE) [67–69]. A área de sensores eletroquímicos foi bastante beneficiada usando filamentos condutores disponíveis comercialmente feitos de compósitos à base de PLA contendo um agente condutor (Proto-Pasta® que contém negro de fumo (CB) e Black-Magic® que contém grafeno (Gr)) que, por sua vez permitiram a produção de sensores com alto desempenho na detecção de moléculas de interesse farmacêutico, forense e ambiental [61, 70–74].

Devido à baixa quantidade de material condutor presente nos filamentos comerciais a resposta eletroquímica de eletrodos impressos a partir desses filamentos é relativamente pobre se comparada a outras superfícies carbonáceas (carbono vítreo, pasta de carbono etc.). Em virtude disso, para ter sua performance melhorada os eletrodos produzidos por impressão 3D necessitam de execução de protocolos de tratamento de superfície da região a ser usada como sensor [75]. Pesquisadores de diferentes grupos de pesquisa têm explorado e proposto protocolos variados, desde a imersão em solventes orgânicos a tratamento eletroquímicos com a aplicação de potenciais com tempo médio superior a 30 minutos, o que pode ser desvantagem no desenvolvimento de sensores eletroquímicos em larga escala [76].

Apesar das múltiplas aplicações e grande potencial para desenvolver sensores eletroquímicos para espécies de interesse ambiental, a literatura não possui exemplos desta tecnologia aplicada ao monitoramento de contaminantes de preocupação emergente em águas naturais. A maior parte das aplicações na área ambiental foi voltada à detecção de metais em águas [77]. João et al. [75] mostraram a detecção de atropina em amostras de bebidas, e Cardoso et al. [78] mostraram a detecção de diferentes moléculas (catecol, dopamina) usando eletrodos Gr-PLA impressos em 3D. Além disso, Cardoso e colaboradores usaram o mesmo eletrodo impresso em 3D para a detecção do explosivo 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) [79]. No entanto, o filamento comercial composto por Gr-PLA apresenta maior custo quando comparado ao filamento CB-PLA [79]. Nesse sentido, o grupo de pesquisa demonstrou que a detecção de TNT também foi possível usando eletrodos CB-PLA impressos em 3D com desempenho eletroanalítico semelhante. Além disso, métodos eletroanalíticos para a detecção de cloranfenicol [80],

naproxeno [81], antioxidantes [82], sulfanilamida [83] ácido úrico e zinco[84], adrenalina [85], hormônios esteróides [74] e dióxido de carbono [86] também foram demonstrados com desempenho analítico adequado.

Na presente pesquisa, a molécula de interesse é o HCQ cuja detecção já foi realizada em diferentes matrizes usando eletrodos tradicionais como de carbono vítreo modificado com diferentes modificadores e BDD. De fato, esses métodos eletroanalíticos mostraram características de sensoriamento atraentes, no entanto, os eletrodos BDD e GCE modificado não são facilmente implementados em análises em campo devido ao seu custo (pouco econômico para produção em larga escala) e requisitos de modificação de superfície. Por esta razão, a Manufatura Aditiva, é uma tecnologia promissora para o desenvolvimento de eletrodos CB-PLA impressos em 3D para serem aplicados, pela primeira vez na determinação do HCQ em amostras farmacêuticas e de água da torneira por voltametria de onda quadrada (VOQ).

2. Objetivos

Este trabalho tem como principal objetivo demonstrar, pela primeira vez, que os eletrodos a base de negro de fumo (em inglês *carbon black*) e PLA (CB-PLA) impressos em 3D podem ser aplicados para a detecção eletroquímica de HCQ em formulações farmacêuticas e água da torneira por voltametria. Com a finalidade de alcançar o objetivo principal, foram realizados os seguintes objetivos específicos:

- 1) Fabricação dos eletrodos de trabalho CB-PLA em forma planar por impressão 3D, usando uma impressora do tipo FDM;
- 2) Análise do desempenho eletroquímico dos dispositivos impressos em 3D com tratamento de superfície à base de NaOH e aplicação de diferentes potenciais para detecção do HCQ;
- 3) Otimização de um método por VOQ para a determinação rápida e sensível do HCQ;
- 4) Aplicação dos sensores de CB-PLA impressos em 3D para a detecção eletroquímica do HCQ em formulações farmacêuticas e amostras de água da torneira.

3. Parte Experimental

3.1 Reagentes e amostras

Todos os reagentes empregados apresentavam pureza analítica e foram utilizados sem purificação adicional. Sulfato de hidroxicloroquina (98% m/m) e azitromicina (98% m/m) foram comprados da Sigma Aldrich (Darmstadt, Alemanha). Paracetamol, Cafeína (99% m/m), ferricianeto de potássio, e ácido fosfórico (85% m/v) foram obtidos da Labsynth (São Paulo, Brasil). O cloreto de potássio (99,5% m/m) foi comprado da Carlo Erba (Emmendingen, Alemanha). Etanol (99,3% v/v) foi obtido a partir da Sciavico (Minas Gerais, Brasil). Ácido acético (98% m/v) foi comprado da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). O ácido bórico (99,8% m/m) e hidróxido de sódio (98% m/m) foram obtidos da AppliChem Panreac (Barcelona, Espanha). O ácido acetilsalicílico foi obtido a partir da Essência (Uberlândia, Brasil). Todas as soluções aquosas utilizadas foram preparadas diariamente, utilizando água desionizada de alta pureza com a resistividade de pelo menos 18 MΩ cm, obtida a partir de um processo de purificação de água Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, Estados Unidos).

O tampão Britton-Robinson (BR) (0,12 mol L⁻¹) foi utilizado como eletrólito de suporte para todas as medições eletroquímicas. Este tampão era composto por uma mistura dos ácidos acético, bórico e fosfórico, todos com uma mesma concentração (0,04 mol L⁻¹). Foi utilizada uma solução de hidróxido de sódio (1 mol L⁻¹) para ajustar os valores de pH diferentes..

Soluções estoque de HCQ (1,5 mmol L⁻¹) foram preparadas diariamente para prevenir a fotodegradação [87], através da dissolução em água desionizada e diluição em eletrólito de suporte adequado. Duas amostras farmacêuticas (comprimidos) foram obtidas em drogarias locais. As amostras eram do mesmo laboratório, variando apenas o lote de fabricação. Dez comprimidos da mesma amostra de fármaco (400 mg por comprimido) foram pulverizados num almofariz com pestilo e uma quantidade de 4 mg foi dissolvida e diluída 2000 vezes em suporte eletrolítico e imediatamente analisado. Duas amostras de água da torneira foram recolhidas utilizando um tubo de centrifugação

de plástico e, fortificadas subsequentemente com níveis de HCQ (10 e 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$) respectivamente, seguido de um processo de diluição (9 vezes) no eletrólito de suporte.

3.2 Instrumentação para medições eletroquímicas e espectrofotométricas (UV-vis)

Foram realizadas medições por voltametrias cíclicas e de onda quadrada utilizando um potenciostato/galvanostato μ -AUTOLAB tipo III (Metrohm Autolab BV, Utrecht, Holanda). Os dados de aquisição e processamento foram adquiridos utilizando o software NOVA 2.1.4. Estes dados foram tratados usando o software OriginPro8.5 (OriginLab[®], Northampton, MA, EUA). Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas à temperatura ambiente e na presença de oxigênio dissolvido em solução (não foi necessário remover o oxigênio das soluções). Um fio de platina imobilizado em ponteira de micropipeta e um eletrodo (vs. $\text{Ag|AgCl|KCl}_{\text{sat.}}$) feito em laboratório, foram utilizados como contra eletrodo e eletrodo de referência, respectivamente. Um espectrofotômetro (FEMTO 600s, Brasil) equipado com uma célula de quartzo de 1 cm a 342 nm, foi utilizado para medições UV, tal como descrito por Ferraz et al. [88].

3.3 Fabricação dos eletrodos CB-PLA impressos em 3D

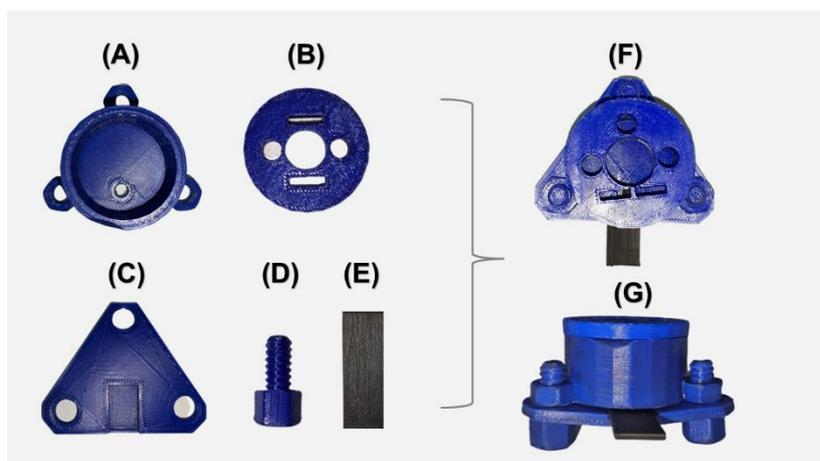
Um filamento comercial composto pela mistura do material condutor CB e do termoplástico PLA (Protopasta, WA, EUA) foi utilizado para a construção dos eletrodos impressos em 3D. A peça retangular (38 mm de comprimento \times 11 mm de largura) foi impressa empregando uma impressora do tipo FDM, a Flashforge Dreamer NX e os parâmetros de impressão usados estão descritos na **Tabela 1**. Os desenhos utilizados como modelo de eletrodo de trabalho estão disponíveis em trabalhos prévios [68, 78].

Tabela 1: Condições de impressão para fabricar os eletrodos CB-PLA

Parâmetros de impressão	Condições
Orientação	Vertical
Preencimento por camada/ mm	0,05
Densidade de enchimento/ %	100
Bico de extrusão/ mm	0,4
Número de perímetro/ paredes	2
Velocidade de impressão/ mm s ⁻¹	30
Temperatura da mesa/ °C	70
Temperatura de extrusão / °C	220

A célula eletroquímica impressa em 3D (volume interno de 10 mL) foi fabricada como descrito por Cardoso et al. [78]. Basicamente, a célula impressa em 3D foi produzida utilizando um acrilonitrilo butadieno estireno (ABS, GTMax, São Paulo, Brasil). Uma imagem real da célula impressa é demonstrada na **Figura 3**.

Figura 3. Imagens reais dos componentes da célula impressa em 3D (vista superior): **(A)** corpo da célula; **(B)** tampa superior; **(C)** tampa inferior; **(D)** parafuso; **(E)** eletrodo de trabalho CB-PLA impresso em 3D; **(F e G)** vista superior e frontal da célula impressa em 3D montada.



As partes da célula incluem: **(A)** recipiente da célula; **(B)** tampa superior com dois orifícios para colocar os eletrodos de referência e contra; **(C)** parte inferior contendo três orifícios para a inserção de **(D)** parafusos; **(E)** eletrodo de trabalho impresso em 3D. Imagem de cima **(F)** e frontal **(G)** da célula impressa em 3D. Um O-ring de borracha, que limitava a área geométrica ($0,18 \text{ cm}^2$) do eletrodo de trabalho, foi fixado no orifício ao fundo do recipiente da célula.

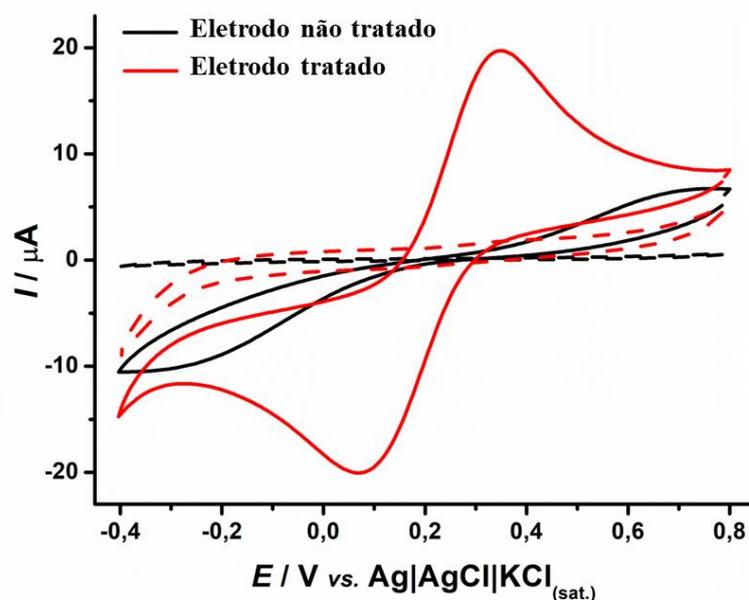
Os eletrodos planares impressos em 3D (eletrodo de trabalho), antes da sua utilização, tinham suas faces submetidas a um polimento utilizando uma lixa (de 1200 *grit*) umedecida com água desionizada até a obtenção de uma superfície homogênea. Em seguida, o tratamento eletroquímico destes eletrodos impressos em 3D foi feito antes dos experimentos subsequentes, usando $\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito de suporte, aplicando o potencial de $+1,4 \text{ V}$ (vs. $\text{Ag|AgCl|KCl}_{\text{sat.}}$) por 200 s, seguido pela aplicação de $-1,0 \text{ V}$ (vs. $\text{Ag|AgCl|KCl}_{\text{sat.}}$) por 200 s de acordo com a literatura [71].

4. Resultados e Discussão

4.1 Efeito do tratamento eletroquímico de superfície sobre oxidação eletroquímica do HCQ

Após o procedimento de polimento mecânico com lixa e água desionizada, o sensor CB-PLA impresso em 3D também foi submetido a estudos preliminares por voltametria cíclica, usando a sonda redox de ferricianeto de potássio, com a finalidade de investigar a influência do tratamento eletroquímico no sensor, como demonstrado na **Figura 4**. Para este estudo preliminar, usou-se o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ como sonda eletroquímica que possui comportamento eletroquímico bem conhecido.

Figura 4. Voltamogramas cíclicos registados para $1 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ usando $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ como eletrólito de suporte, antes (linha preta) e depois (linha vermelha) do tratamento eletroquímico. As linhas tracejadas são os respectivos brancos. Condições voltamétricas: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} incremento de potencial: 5 mV .

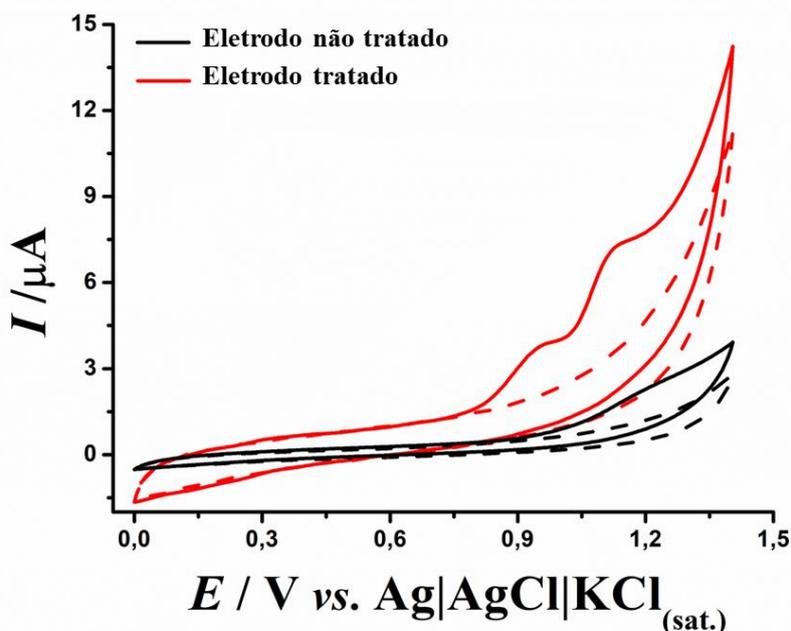


De acordo com os resultados mostrados na **Figura 4** é possível observar no eletrodo impresso sem o tratamento eletroquímico (linha preta contínua) uma resposta

pouco intensa de corrente e baixa reversibilidade eletroquímica para ferricianeto de potássio (ou seja, processos de oxidação e redução ocorrem nos potenciais extremos positivo e negativo da janela de potencial). Resultados semelhantes aos obtidos com eletrodos de trabalho impressos em 3D não tratados (linha preta contínua) foram observados em trabalhos prévios [78, 89, 90]. Por outro lado, o comportamento eletroquímico no eletrodo de trabalho CB-PLA é significativamente melhorado após o tratamento eletroquímico (linha vermelha contínua), aproximando-se do sistema ideal para este par redox (picos de oxidação e redução bem definidos e razão da corrente de oxidação pela corrente de redução próxima a 1).

Também foram realizados estudos prévios por voltametria cíclica com a finalidade de investigar a influência do tratamento eletroquímico, no eletrodo CB-PLA impresso em 3D, frente à resposta eletroquímica do HCQ. Para tal, foram realizados voltamogramas cíclicos na presença de $28 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ, usando eletrodo tratado e eletrodo não tratado, em tampão BR ($0,12 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 7,0) como eletrólito de suporte (**Figura 5**).

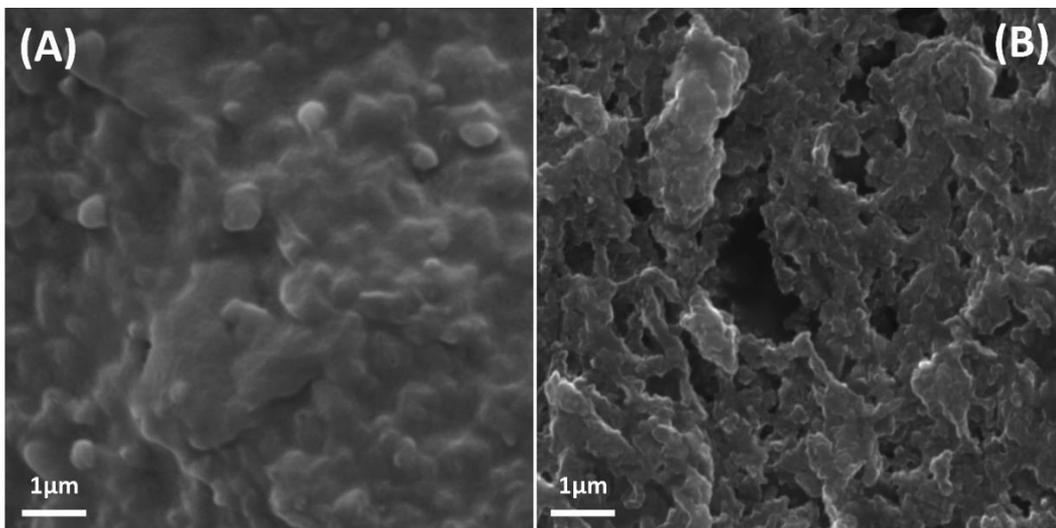
Figura 5. Perfis voltamétricos cíclicos obtidos para $28 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ usando o eletrodo CB-PLA impresso 3D antes (linha preta) e depois do tratamento eletroquímico (linha vermelha), utilizando tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$). As linhas tracejadas são os respectivos brancos. Condições voltamétricas: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} incremento de potencial: 5 mV .



Como pode ser observado, um processo de oxidação de baixa intensidade (cerca de $+1,2 \text{ V vs. Ag|AgCl| KCl}_{\text{sat.}}$) foi obtido utilizando um processo de oxidação sem tratamento do eletrodo (linha preta contínua). Em contraste, um melhor perfil voltamétrico foi conseguido na superfície tratada do CB-PLA impresso em 3D (linha vermelha contínua), onde dois sinais de oxidação bem definidos foram observados (em cerca de $+0,9 \text{ V}$ e $+1,2 \text{ V vs. Ag|AgCl| KCl}_{\text{sat.}}$). Este último resultado é mais compatível com outros estudos que utilizam eletrodos à base de carbono para a detecção do HCQ [43, 54]. Como discutido em estudos anteriores relatados pelo nosso grupo de investigação [69, 71, 91], o tratamento eletroquímico utilizando uma solução alcalina ($\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$) resulta no consumo do material isolante (PLA) por meio da reação de saponificação e expõe uma maior quantidade de CB locais condutores, o que contribui para aumentar a área de resposta dos eletrodos e, conseqüentemente, o acesso aos sítios condutores.

Richter et al. [71] demonstraram por meio de técnicas microscópicas que os sítios condutores se tornam mais disponíveis após o tratamento eletroquímico de superfície. As imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) apresentadas na **Figura 6 A e B** demonstraram uma porosidade maior após a ativação eletroquímica (**Figura 6 B**), que é explicado por Richter et al. [71] como a remoção parcial do PLA através da reação de saponificação decorrida do uso da solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ durante o procedimento de ativação.

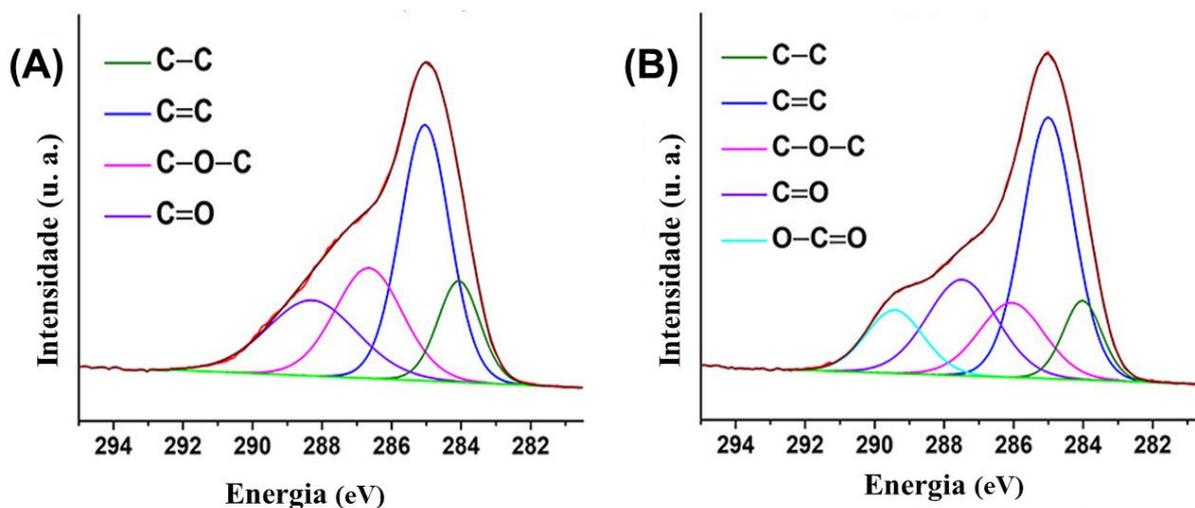
Figura 6. Imagens MEV obtidas (A) antes e (B) depois da ativação eletroquímica do eletrodo de trabalho CB-PLA impresso em 3D.



Fonte: Próprio autor, 2023.

Além disso, as análises por espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) disponíveis na **Figura 7 A e B** mostraram alterações de grupos funcionais de carbono como a diminuição dos grupos C—C, C—O—C e aumento dos grupos funcionais C=C e O—C=O na superfície do eletrodo após o procedimento de ativação, assim, estas alterações são apontadas como explicação para a melhora da atividade eletroquímica do sensor apresentado.

Figura 7. Espectros XPS obtidos (A) antes e (B) depois da ativação eletroquímica do eletrodo de trabalho CB-PLA impresso em 3D.



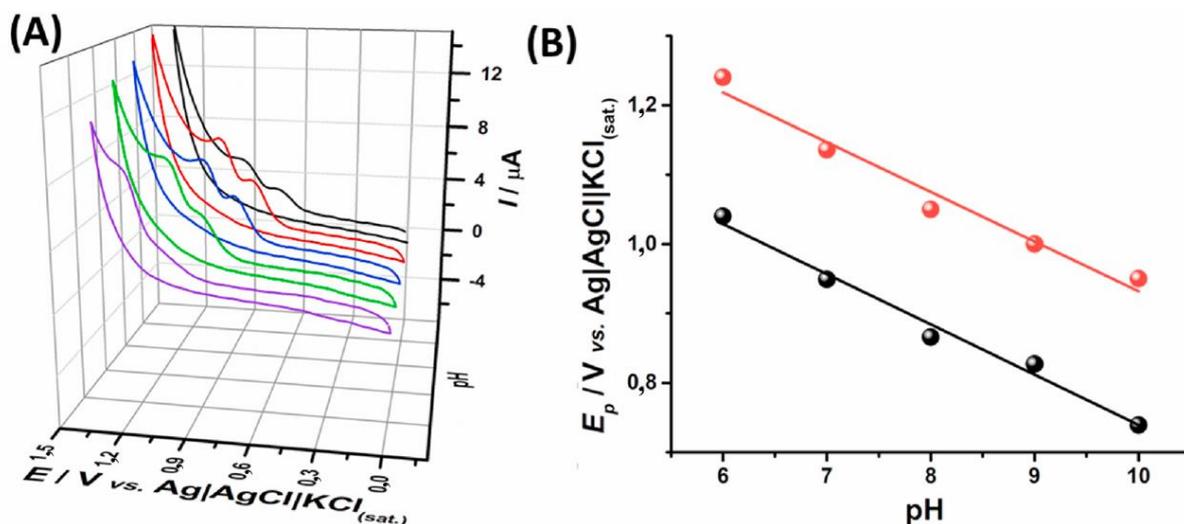
Fonte: adaptado do artigo [71].

Com base nos resultados apresentados, o eletrodo CB-PLA impresso em 3D eletroquimicamente tratado foi selecionado para estudos posteriores.

4.2 Estudo de pH e da velocidade de varredura

Comportamento eletroquímico do HCQ foi avaliado em tampão BR em valores de pH variando de 6,0 a 10,0, conforme mostrado na **Figura 8 A**. Como observado, em toda a faixa de pH investigada, o HCQ exibiu dois processos de oxidação dependentes do pH. A relação linear entre o potencial de pico (E_p) e pH para ambos os processos resultaram em valores de inclinação de 70 e 71 mV para primeiro e segundo processos de oxidação, respectivamente. Estes valores são próximos a 59 mV pH^{-1} , o que indica que o mesmo número de elétrons e prótons está envolvido nesses processos eletroquímicos (**Figura 8 B**), conforme relatado na literatura [9, 40, 42].

Figura 8. (A) Respostas voltamétricas cíclicas obtidas para $28 \mu\text{mol L}^{-1}$ HCQ em tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes pHs (linha roxa, pH = 6,0); (linha verde, pH = 7,0); (linha azul, pH = 8,0); (linha vermelha; pH = 9,0); (linha preta, pH = 10,0). (B) Relação entre pH e potencial de pico (E_p) para o primeiro (linha preta) e segundo (linha vermelha) processos de oxidação do HCQ. Parâmetros voltamétricos: velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV .



Considerando que o pH 9,0 proporcionou uma melhor resposta eletroquímica (forma do pico e altura do pico) e que o potencial do pico de oxidação se deslocou para valores menos positivos (HCQ pode ser detectado em um potencial menor), este pH foi selecionado. Sob esta condição, o transporte de massa das reações eletroquímicas de HCQ ($28 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi verificado variando a velocidade de varredura (v) de 10 a 150 mVs^{-1} (Figura 9 e 10).

Figura 9. (A) Respostas voltamétricas cíclicas obtidas para $28 \mu\text{mol L}^{-1}$ HCQ em Tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,0$) variando as velocidades de varredura ($10\text{--}150 \text{ mV s}^{-1}$). (B) Relação do potencial de pico (E_p) em função do $\log v$ para o primeiro (linha preta) e segundo (linha vermelha) processos eletroquímicos.

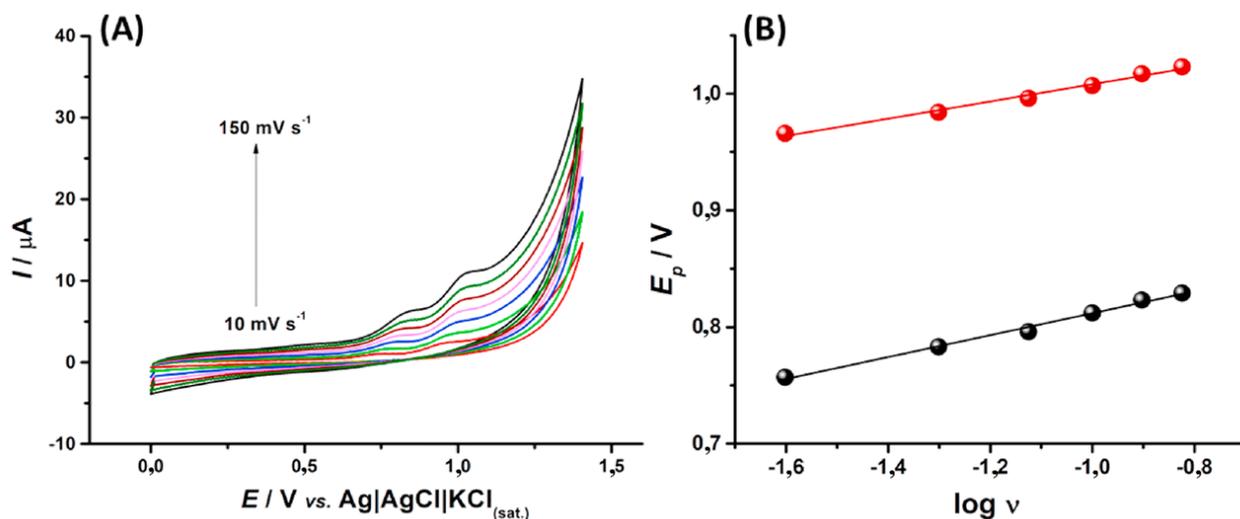
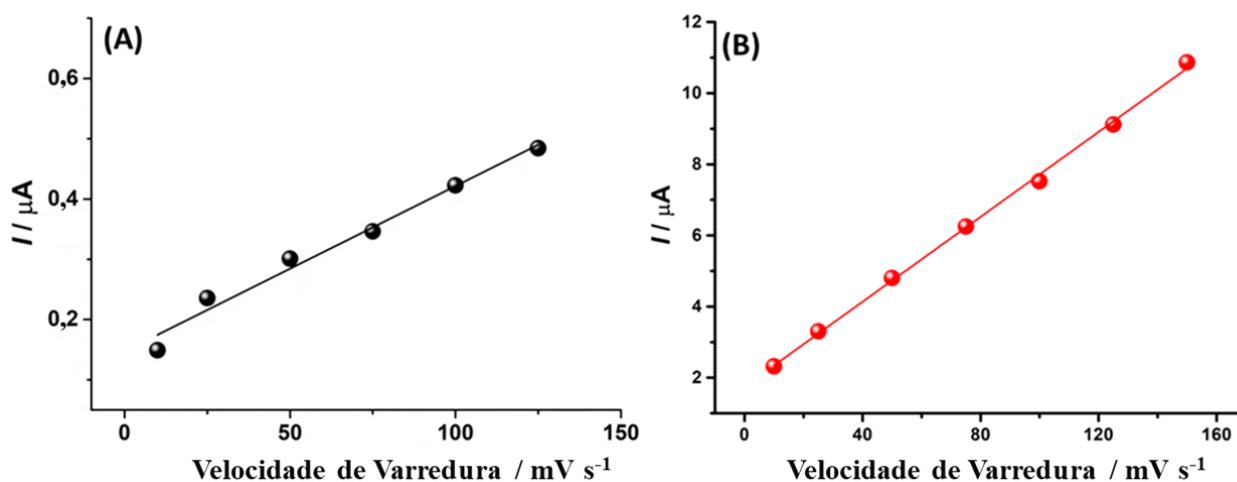


Figura 10. Relação da resposta de corrente em função da velocidade de varredura para (A) primeiro e (B) segundo processos eletroquímicos obtidos através de VC na Figura 6 A.



A relação linear entre a corrente de pico e a velocidade de varredura ($r^2 \geq 0,99$) para ambos os processos de oxidação indicou um transporte de massa controlado pela adsorção de espécies do HCQ (Figura 10). Tal comportamento concorda com outros estudos envolvendo superfícies à base de carbono aplicadas à detecção do HCQ [14, 52].

De acordo com Laviron [92], o potencial de pico (E_p) é dependente de $\log v$ para processo controlado por adsorção, conforme descrito acima (Eq.(1)):

$$E_p = A + \frac{2,303 RT}{(1-\alpha)nF} \log v \quad (1)$$

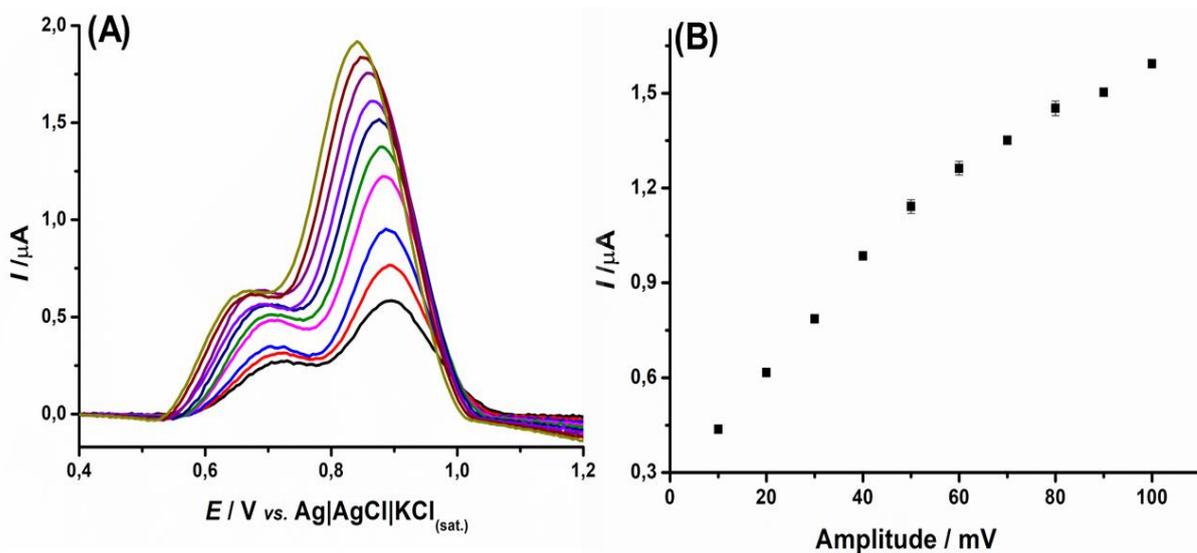
Onde A é uma constante relacionada ao potencial formal do eletrodo (E_0) e a constante de varredura padrão em (E_0), n é o número de elétrons envolvidos na reação, R a constante universal dos gases ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), F a constante de Faraday, T é a temperatura (298 K) e α é o coeficiente de transferência de elétrons. Portanto, usando a equação de Laviron e assumindo um valor de $\alpha = 0,5$, conforme descrito para espécies orgânicas com processos eletroquímicos irreversíveis, o elétron transferido é calculado em 1,2 e 1,6 para o primeiro e segundo processos, respectivamente (**Figura 9B**). Esses valores sugerem que um e dois elétrons estiveram envolvidos no primeiro e segundo processos eletroquímicos, respectivamente. Tais resultados concordam com outros trabalhos relatados na literatura para o mecanismo de reação do HCQ, em que o primeiro e o segundo processos de oxidação ocorrem na amina aromática e no grupo hidroxila desta molécula [9, 41, 53].

Nos próximos experimentos, apenas o segundo processo de oxidação (por volta de $+ 1,05 \text{ V}$) foi investigado para fins de detecção usando tampão BR ($0,12 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 9,0), uma vez que esse pico de corrente mais alto foi alcançado quando em comparação com o primeiro processo de oxidação de HCQ.

4.3 Otimização do método por Voltametria de Onda Quadrada

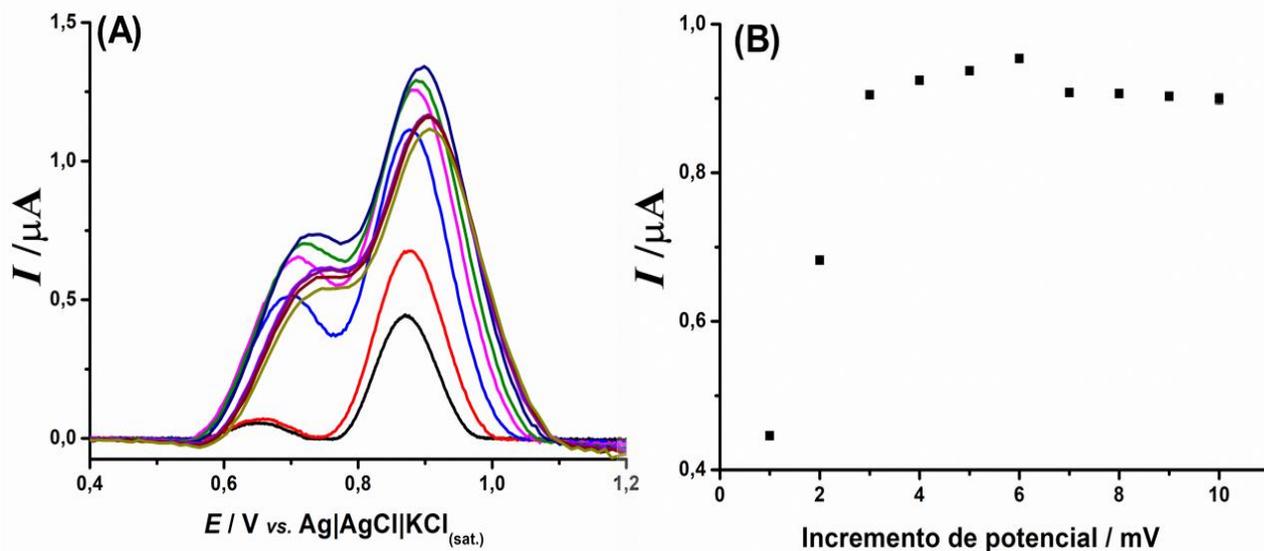
A técnica VOQ foi usada para demonstrar a aplicabilidade do eletrodo CB-PLA impresso em 3D para a detecção rápida e seletiva de HCQ. Para tanto, os parâmetros de VOQ (frequência, amplitude e potencial de incremento) foram sistematicamente otimizados por meio de testes univariados. As condições de VOQ foram selecionadas com base em seu efeito nos perfis voltamétricos, como resposta de corrente, velocidade de análise e formato do pico, usando $3,75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ e tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,0) como eletrólito de suporte (**Figuras 11-13**).

Figura 11. (A) VOQ com correção da linha de base registrada na presença de 3,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ em tampão BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 9,0) para avaliar o efeito da amplitude na corrente de pico. (B) corrente de pico vs. amplitude. Demais condições de VOQ: frequência: 30 s^{-1} ; incremento de potencial: 5 mV.



Como é possível observar na **Figura 11B**, a faixa estudada para avaliar a influência da amplitude na corrente de pico foi de 10 a 100 mV e o valor de 70 mV foi selecionado devido à obtenção de uma corrente elevada e perfil voltamétrico (voltamograma linha violeta **Figura 11A**) mais bem resolvido. Por sua vez o efeito do incremento de potencial na corrente de pico foi avaliado a partir dos resultados dispostos na **Figura 12**.

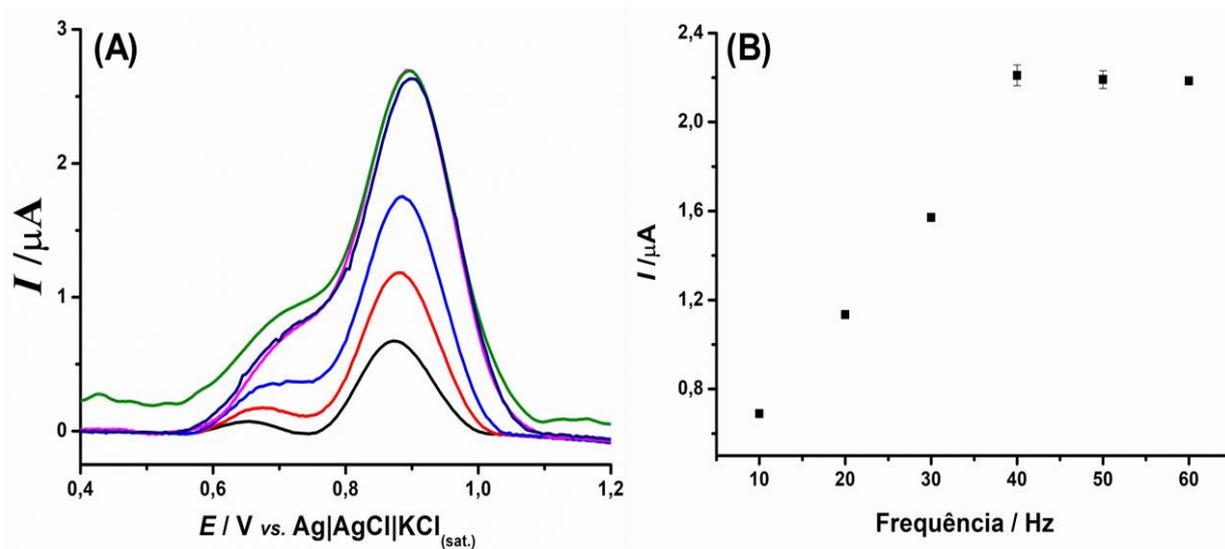
Figura 12. (A) VOQ com correção da linha de base registrada na presença de $3,75 \mu\text{mol L}^{-1}$ HCQ em tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,0$) para avaliar o efeito do incremento de potencial na corrente de pico. (B) corrente de pico vs incremento de potencial. Demais condições de VOQ: frequência: 30 s^{-1} ; amplitude: 50 mV .



De forma similar ao valor da amplitude otimizado, o incremento de potencial foi selecionado variando os valores de 1 a 10 mV. Como o valor de 4 mV de incremento de potencial apresentou um perfil voltamétrico bem definido e corrente de pico elevada, foi escolhido para otimização final do método.

Por fim, a frequência de 30 s^{-1} foi selecionada por gerar um sinal mais repetitivo (menor desvio), bem definido e de maior corrente, como pode ser visto na **Figura 13**.

Figura 13. (A) VOQ com correção da linha de base registrada na presença de 3,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ HCQ em tampão BR 0,12 mol L^{-1} (pH = 9,0) para avaliar a influência da frequência na corrente de pico. (B) corrente de pico vs. frequência. Demais condições de VOQ: amplitude: 50 mV; incremento de potencial: 5 mV.



As faixas avaliadas e respectivos valores selecionados estão listados na **Tabela 2.**

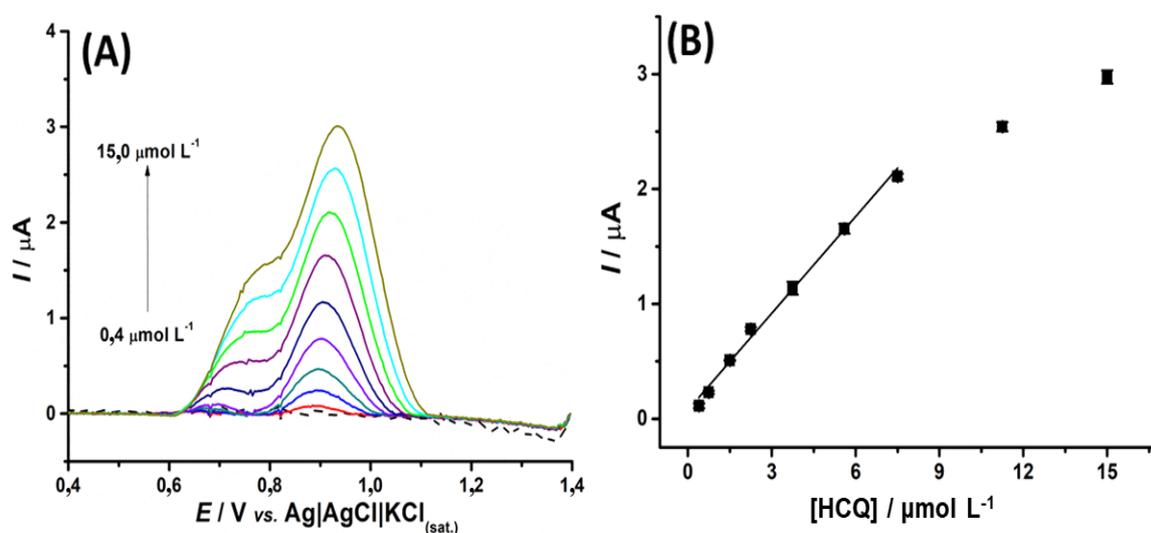
Tabela 2. Faixas estudadas e valores selecionados para a detecção de 3,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ por VOQ.

Parâmetros	Faixa Estudada	Valor selecionado
Amplitude / mV	10-100	70
Incremento de Potencial / mV	1-10	4
Frequência / s^{-1}	10-60	30

Após condições selecionadas da VOQ, um gráfico de calibração foi construído após sucessivas adições de concentrações de HCQ usando tampão BR (0,12 mol L^{-1} , pH = 9,0) como eletrólito de suporte. Uma resposta linear foi alcançada para soluções padrão

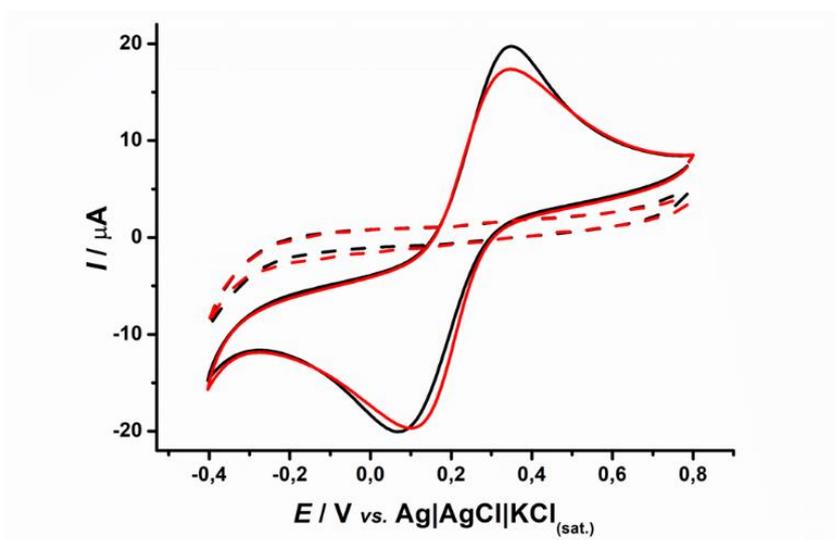
de HCQ ($0,4\text{--}7,5\ \mu\text{mol L}^{-1}$) com um bom coeficiente de correlação linear ($r>0,994$), como notado na **Figura 14**.

Figura 14. (A) Respostas por VOQ com correção da linha de base obtidas para concentrações crescentes ($0,4\text{--}15\ \mu\text{mol L}^{-1}$) de HCQ usando $0,12\ \text{mol L}^{-1}$ de Tampão BR ($\text{pH} = 9,0$) em eletrodos CB-PLA impressos em 3D e respectivo gráfico de calibração (B). Condições VOQ: amplitude = $70\ \text{mV}$; incremento de potencial = $4\ \text{mV}$; frequência = $30\ \text{s}^{-1}$.



Acredita-se que o curto alcance linear pode estar relacionado ao bloqueio dos sítios ativos na superfície do eletrodo pelo produto de oxidação do HCQ. No entanto, as medições eletroquímicas foram realizadas usando uma sonda redox de ferricianeto de potássio antes e após a preparação da curva de calibração. Considerando que os perfis voltamétricos para a sonda redox foram semelhantes (potenciais de pico de oxidação e de redução e resposta de corrente) para medidas antes (linha preta contínua) e após (linha vermelha contínua) os ensaios na presença de HCQ (**Figura 15**), não há evidência de bloqueio da superfície do eletrodo por parte do HCQ.

Figura 15. Voltamogramas cíclicos registrados para $1 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ usando $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl como eletrólito de suporte, antes (linha preta) e depois (linha vermelha) da construção da curva de calibração de HCQ. As linhas tracejadas são os brancos da análise. Condições voltamétricas: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; incremento de potencial: 5 mV .



Portanto, o curto alcance linear pode estar relacionado a uma propriedade intrínseca da molécula, uma vez que o mesmo comportamento já foi observado quando se utilizou um eletrodo de diamante dopado com boro [42].

A partir da curva de calibração, o limite de detecção (LD) e a sensibilidade (inclinação) foram estimados em $0,04 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,28 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$, respectivamente. O LD foi calculado com base na definição IUPAC, ($\text{LD} = 3\sigma/s$), onde s é a sensibilidade (inclinação) obtida através do gráfico de calibração (**Figura 16 B**) e σ é o desvio padrão do ruído do gráfico de calibração. A **Tabela 3** resume os parâmetros analíticos obtidos a partir dos dados apresentados na **Figura 14**.

Tabela 3. Parâmetros analíticos obtidos para determinação de HCQ pelo sensor CB/PLA impresso em 3D proposto.

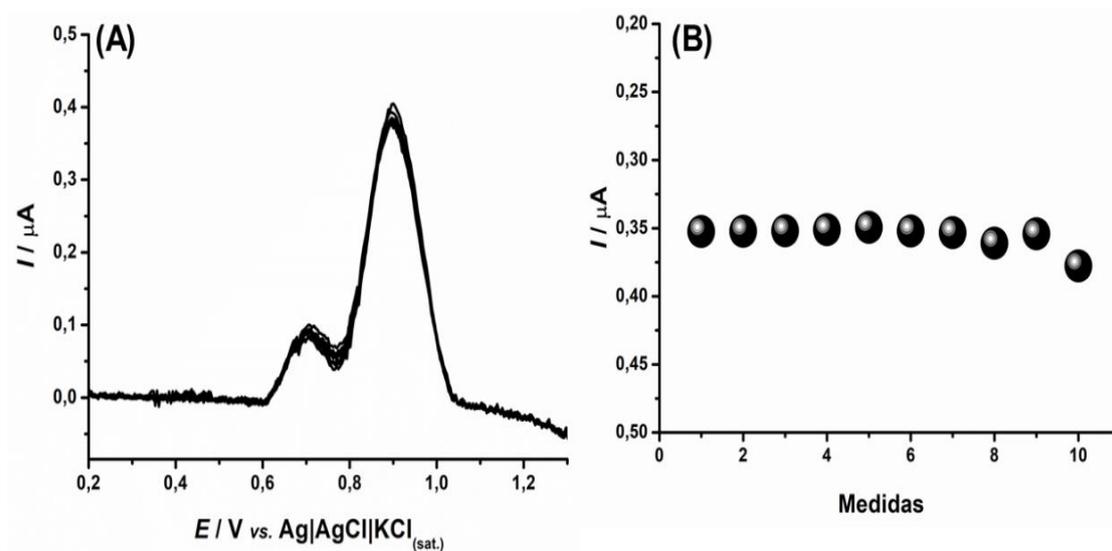
Parâmetros analíticos	Valor
R	0,994
^a Intercepto / μA	0,07 \pm 0,03
^b Inclinação / $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$	0,28 \pm 0,01
Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,4-7,5
LD $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,04
^c RSD / %	2,4

^{a,b}Desvio obtido da regressão;

^cMedições repetitivas para 3,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ.

A precisão foi estimada usando a variação de medidas sucessivas por VOQ para 3,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ (**Figura 16**). O valor de RSD (2,4%) indica que o método apresenta boa precisão e estabilidade realizando 10 medidas por eletrodo.

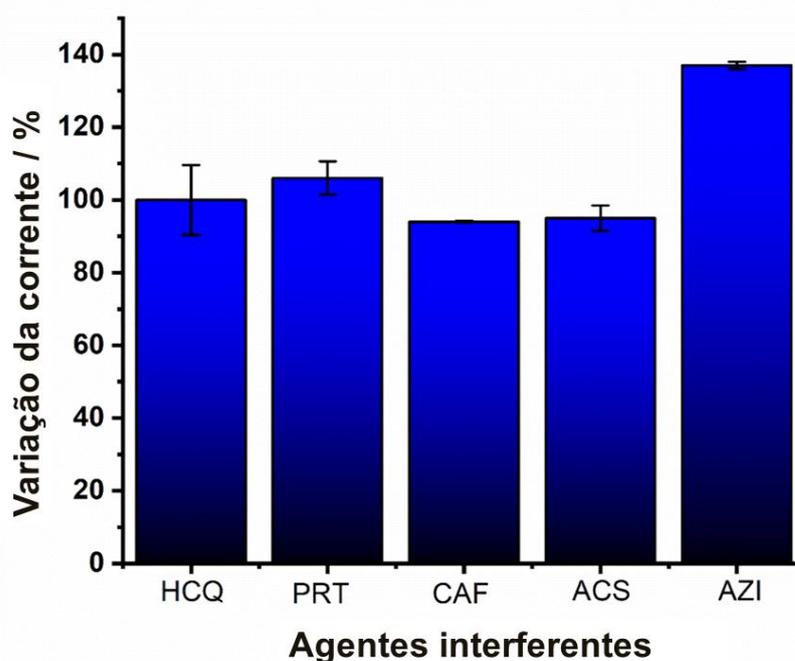
Figura 16. (A) Respostas por VOQ com correção da linha de base para medições sucessivas ($n = 10$) de 3,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ e a respectiva variação de corrente de pico para replicações sucessivas (B).



4.4 Determinação de HCQ em amostras farmacêuticas e de água da torneira

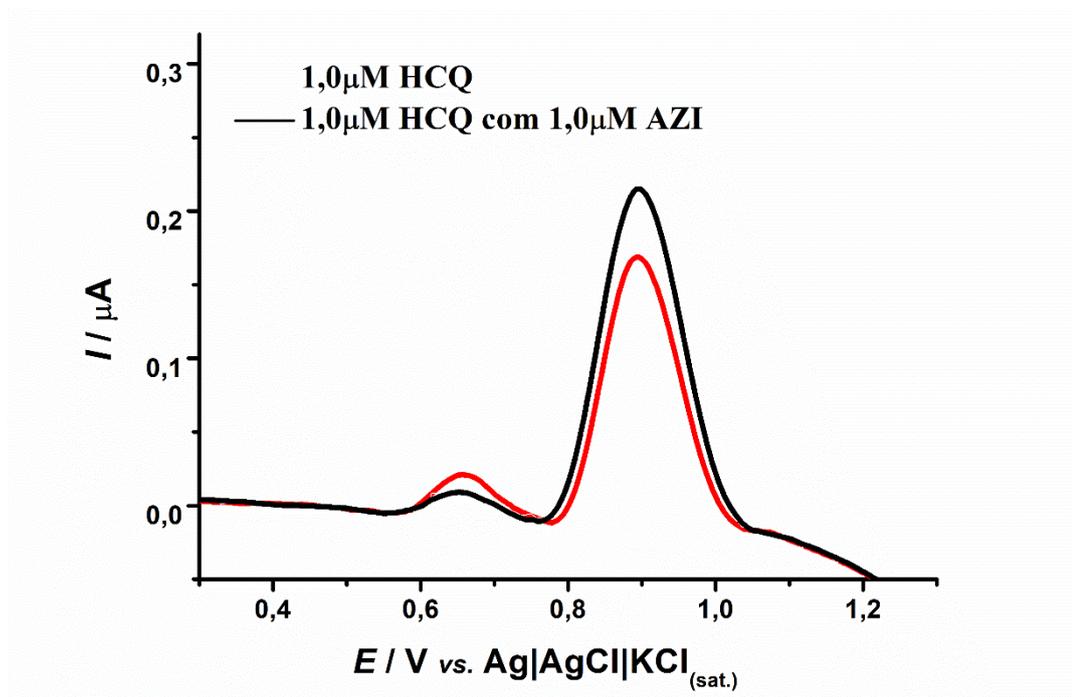
Antes de realizar as aplicações em amostras, foi realizado um estudo de seletividade na presença de outros contaminantes de preocupação emergente e também amplamente usados durante a pandemia SARS-CoV-2, como a azitromicina (AZI), paracetamol (PRT), cafeína (CFN) e o ácido acetilsalicílico (ACS), utilizando $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCQ e uma razão HCQ/agente interferente (1:1) (**Figura 17**).

Figura 17. Variação da corrente de pico do HCQ na presença de espécies interferentes, paracetamol (PRT), cafeína (CAF), ácido acetilsalicílico (ACS) e azitromicina (AZI), usando a relação HCQ/agente interferente (1:1).



Como pode ser visto na **Figura 17**, os resultados indicam uma seletividade adequada (a variação na resposta eletroquímica do HCQ foi menor que 12%) na presença de PRT, CFN e ACS. No entanto, a resposta atual do HCQ na presença de AZI aumentou em 40%. De acordo com a literatura, AZI tem um processo de oxidação em torno de +0,9 V (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{\text{sat}}$), como pode ser demonstrando na **Figura 18**, onde esse processo se sobrepõe à resposta do HCQ (linha preta contínua) [93, 94]. Por outro lado, o primeiro pico de oxidação para o HCQ pode ser usado para diferenciar essas espécies.

Figura 18. Variação da corrente de pico do HCQ na presença da espécie interferente azitromicina (AZI), usando a relação HCQ/agente interferente (1:1).



Posteriormente, para demonstrar a viabilidade da aplicação do sensor CB-PLA impresso em 3D, amostras de água da torneira e farmacêuticas foram analisadas usando o método de adição padrão. Para isso, a água da torneira foi coletada e fortificada com dois níveis de concentração de HCQ (10 e 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$), diluídas 9 vezes cada, em eletrólito na célula afim de que a concentração final estivesse dentro da faixa linear (0,4–7,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$). As amostras farmacêuticas foram diluídas 2000 vezes no eletrólito de suporte. As **Figuras 19 e 20** apresentam voltamogramas por VOQ e o respectivo gráfico de calibração para amostras A e B de comprimidos farmacêuticos (**Figura 19**) e amostras A e B de água da torneira (**Figura 20**). Os resultados e valores de recuperação obtidos neste estudo foram descritos e compilados nas **Tabelas 4 e 5**.

Figura 19. Respostas por VOQ com correção da linha de base para a análise de **(A)** comprimido farmacêutico (amostra A) e **(B)** comprimido farmacêutico (amostra B) diluídas em Tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,0$) antes (eletrólito suporte, linha tracejada) e após a adição de amostra (linha vermelha) e respectivas concentrações crescentes de HCQ (linhas verde, azul escuro e azul claro). Inserido: os respectivos gráficos de calibração. Condições VOQ: amplitude = 70 mV ; potencial de passo = 4 mV ; frequência = 30 s^{-1} .

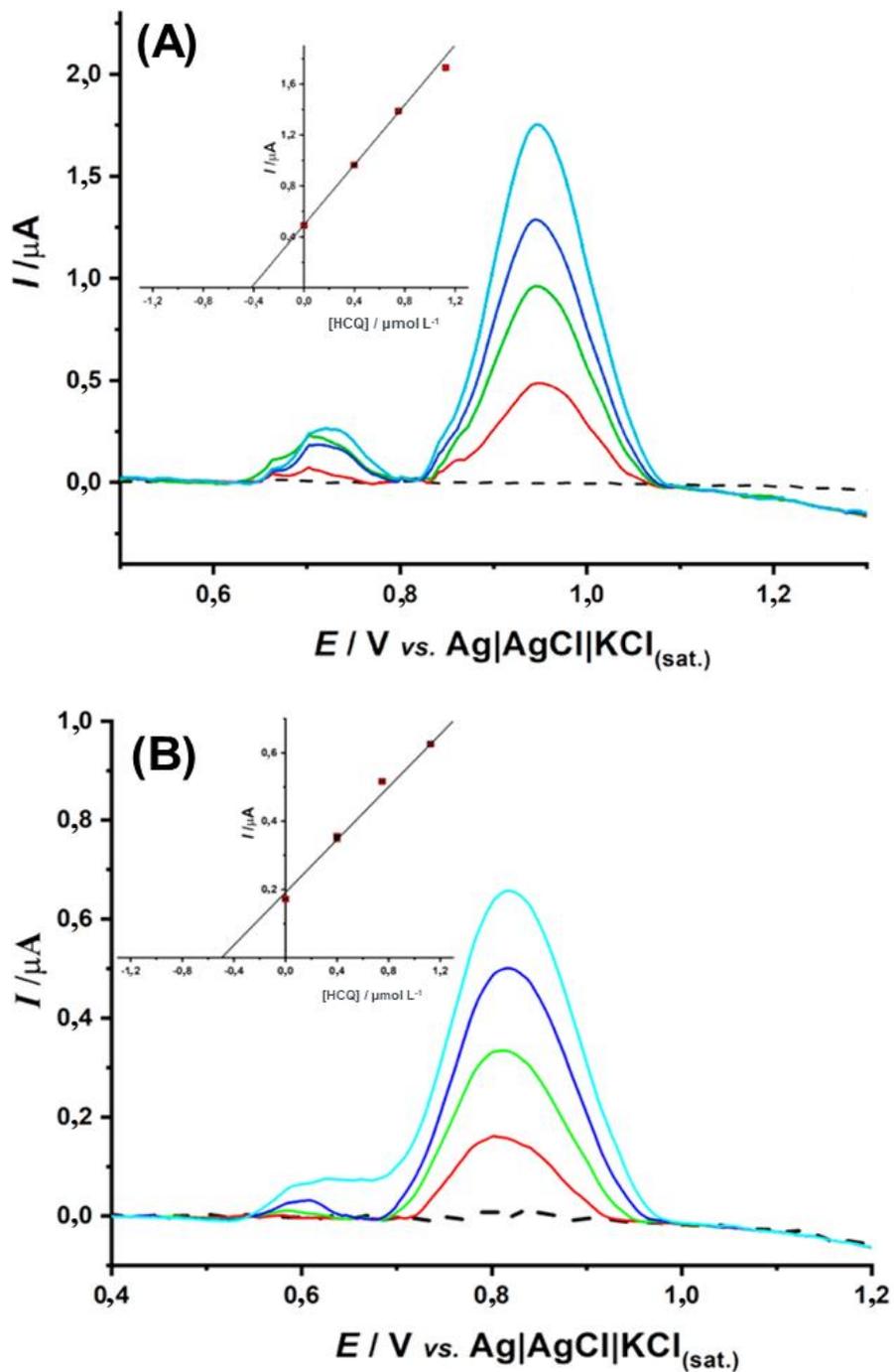
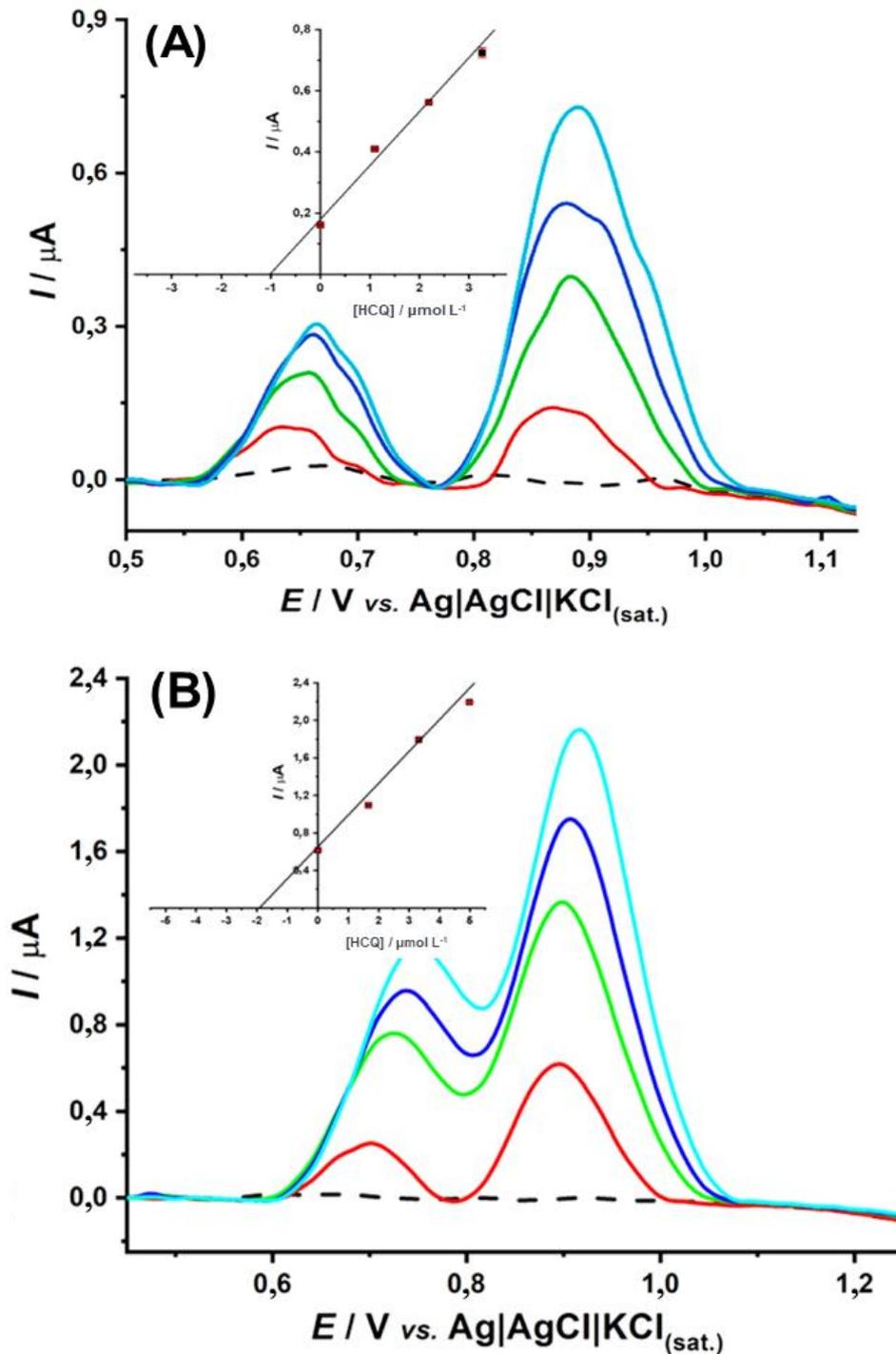


Figura 20. Respostas por VOQ com correção da linha de base para a análise de **(A)** Amostra de água da torneira fortificada (amostra A) e **(B)** Amostra de água da torneira fortificada (amostra B) diluídas em Tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,0$) antes (eletrólito suporte, linha tracejada) e após a adição de amostra (linha vermelha) e respectivas concentrações crescentes de HCQ (linhas verde, azul escuro e azul claro). Inserido: os respectivos gráficos de calibração. Condições VOQ: amplitude = 70 mV ; potencial de passo = 4 mV ; frequência = 30 s^{-1} .



Como pode ser visto na **Tabela 4**, teores de HCQ encontrados nas amostras farmacêuticas estavam estatisticamente concordantes com o valor obtido pelo método espectrofotométrico. De acordo com teste-t pareado, o valor calculado (0,95) foi menor que o valor crítico teórico (4,30, para $n = 3$), o que indica que os resultados obtidos pelos dois métodos são estatisticamente semelhantes (nível de confiança de 95%). Além disso, valores de recuperação satisfatórios (de 99 a 112%) foram obtidos para amostras de água da torneira, o que indicou a ausência de efeito de matriz (**Tabela 5**).

Tabela 4. Resultados (média \pm desvio padrão) obtidos para determinação de HCQ em amostras farmacêuticas por VOQ usando o eletrodo CB-PLA impresso em 3D e por espectrofotometria (região UV).

Amostras	VOQ / mg	Espectrofotometria UV / mg
Amostra A	367 \pm 2	367 \pm 6
Amostra B	359 \pm 1	364 \pm 9

De acordo com a **Tabela 4**, as duas amostras estão abaixo do valor descrito por fármaco (400 mg) a cada comprimido. A literatura demonstra que a faixa de variação aceitável seria de $\pm 7\%$, que seria 372 de 428 mg [95]. Por tanto, os valores de HCQ encontrados nas amostras A e B dos fármacos analisados pelos dois métodos estão abaixo do valor mínimo que deveria ser encontrado.

Tabela 5. Resultados (média \pm desvio padrão) obtidos para determinação de HCQ em amostras de água da torneira por VOQ usando eletrodo CB-PLA impresso em 3D.

Amostras	Fortificado / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Encontrado / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação / %
Água da torneira A	10,0	9,9 \pm 0,5	99 \pm 5
Água da torneira B	15,0	16,9 \pm 0,1	112 \pm 1

O desempenho analítico do método desenvolvido, como faixa linear e LD, foi comparado a outros sensores eletroquímicos relatados na literatura para detecção do HCQ (**Tabela 6**). Como pode ser observado, muitos dos sensores utilizam materiais caros e requerem etapas de modificação de superfície trabalhosas, o que proporciona um aumento no tempo de análise. Além disso, o desempenho analítico do CB-PLA impresso em 3D proposto é semelhante ou melhor do que os eletrodos convencionais. É importante ressaltar que o eletrodo CB-PLA impresso em 3D é um dispositivo descartável versátil e barato, com bom potencial para análise no local.

Tabela 6. Comparação do desempenho analítico obtido usando eletrodo CB-PLA impresso em 3D com outros sensores eletroquímicos relatados na literatura para determinação de HCQ.

Eletrodo	Método	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Faixa Linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Amostras	Referências
SDSMCNTPE	VC	0,85	10–40	Farmacêutica	[14]
RGO-TiO ₂ /GCE	VOQ	0,01	0,25–500	Farmacêutica	[54]
GCE- PMPDASAM	VPD	0,004	10-99	Soro sanguíneo	[9]
EPC/CNNS	VPD	0,00016	0,01–7,00	Farmacêutica e Urina	[52]
GCE-PMPD SAM	VPD	0,004	12-111	Farmacêutica e soro sanguíneo	[53]
BDD	VOQ	0,06	0,1–2,0	Urina	[42]
MWCNT/EPC	AdSDPV	0,006	0,06–100	Soro sanguíneo	[43]
3D CB-PLA	VOQ	0,04	0,4–7,5	Farmacêutica; Água da torneira	Este Trabalho

SDSMCNTPE: Eletrodo de pasta de nanotubo de carbono modificado com dodecil sulfato de sódio; rGO–TiO₂/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado por nanocompósito óxido de grafeno reduzido – TiO₂; GCE-PMPDASAM: Eletrodo de carbono vítreo modificado com N,N-bis[(E)-(1-piridil)metilideno]-1,3-propanodiamina monocamada automontada; CGE: eletrodo revestido de grafite; EPC/CNNS: eletrodo de pasta de carbono modificado com nanofolhas de nitreto de carbono; GCE-PMPD SAM: Eletrodo de carbono vítreo modificado com N,N-bis[(E)-(1-piridil)metilideno]-1,3-propanodiamina (PMPD) monocamada automontada (SAM); BDD: diamante dopado com boro; MWCNT/EPC: Eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas; VOQ: voltametria de onda quadrada; VPD: voltametria de pulso diferencial; VC: Voltametria cíclica; AdSDPV: Voltametria de pulso diferencial com redissolução adsortiva.

5. Conclusão

Este trabalho demonstrou um método eletroquímico para a determinação de hidroxicloroquina em água da torneira e amostras farmacêuticas utilizando eletrodos CB-PLA impressos em 3D. Foi observado um aumento substancial na resposta eletroquímica para o composto HCQ após o tratamento de ativação da superfície do eletrodo impresso em 3D, levando a um desempenho analítico semelhante ao dos eletrodos convencionais. Foi alcançada uma faixa linear ($0,4-7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) e uma elevada detectabilidade ($\text{LOD} = 0,04 \mu\text{mol L}^{-1}$). Além disso, a viabilidade deste método foi demonstrada através da análise de água da torneira e amostras farmacêuticas em que se mostrou exatidão apropriada obtendo valores de recuperação entre 99 e 112% para amostras de água de torneira, além disso, apresentou a concentração de valores obtidos para comprimidos farmacêuticos estatisticamente semelhantes aos valores obtidos por espectrofotometria (região UV) com 95% do nível de confiança. Em suma, o método proposto é simples, de baixo custo, preciso ($\text{RSD} < 2,4\%$), realiza até 10 medidas por uso e pode ser utilizado em laboratórios com requisitos mínimos de infraestrutura, pois uma impressora 3D do tipo FDM é um instrumento de custo baixo ($\sim 250 \text{ U\$}$), ademais, é possível realizar a detecção de HCQ no local através da combinação do dispositivo proposto com uma instrumentação portátil.

6. Perspectivas do trabalho

- Desenvolver tratamento de superfície no sensor 3D CB-PLA com impressora à laser na região do UV-Vis e aplicar sensor para detecção simultânea de HCQ e PRT;
- Produzir novos filamentos a base de grafeno para impressão em 3D com a finalidade de gerar eletrodos com melhor desempenho analítico para a detecção de HCQ e outros analitos.

7. Produção científica

- Uso de eletrodos a base carbono impressos em 3D para a detecção eletroquímica de hidroxicloroquina em amostras farmacêuticas e água. Trabalho apresentado em formato pôster no XXXIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (34^oERSBQ-MG), presencial, dezembro, 2022.
- Additively manufactured electrodes for the electrochemical detection of hydroxychloroquine, 2022. Trabalho publicado na revista Talanta, Volume 250, p 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123727>

8. Referências

1. Alfaro Murillo A, León Bratti MP (2020) Hidroxicloroquina: Del fármaco de herencia Inca hasta la inmunología moderna. *Acta Med Costarric* 62:57–64. <https://doi.org/10.51481/amc.v62i2.1062>
2. Schrezenmeier E, Dörner T (2020) Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat Rev Rheumatol* 16:155–166. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0372-x>
3. EMS (2022) ANVISA, A. N. de Sulfato de Hidroxicloroquina EMS S / A comprimido revestido 400 mg
4. Gass, J., Donald M (1997) Toxic disease affecting the pigment epithelium and retina: chloroquine (Aralen) and hydroxychloroquine (Plaquenil) retinopathy, *Stereoscopic atlas of macular disease: diagnosis and treatment*. St Louis Mosby-Year B 4:4557–73
5. Weinberg, DV. D'. Amico D (1994) Retinal toxicity of systemic drugs. *Princ Pract Ophthalmol Clin Pract* 3284–5
6. Jessop S, Whitelaw DA, Grainge MJ, Jayasekera P (2017) Drugs for discoid lupus erythematosus. *Cochrane Database Syst Rev* 2017:. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002954.pub3>
7. Goldhardt R, Corrêa ZM da S, Eichenberg MC, et al (2002) Avaliação da toxicidade ocular por derivados da 4-aminoquinolona. *Arq Bras Oftalmol* 65:645–649. <https://doi.org/10.1590/s0004-27492002000600009>
8. Rainsford KD, Parke AL, Clifford-Rashotte M, Kean WF (2015) Therapy and pharmacological properties of hydroxychloroquine and chloroquine in treatment of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and related diseases. *Inflammopharmacology* 23:231–269. <https://doi.org/10.1007/s10787-015-0239-y>
9. Khoobi A, Ghoreishi SM, Behpour M, et al (2014) Design and evaluation of a highly sensitive nanostructure-based surface modification of glassy carbon electrode for electrochemical studies of hydroxychloroquine in the presence of acetaminophen. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 123:648–656. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.10.002>
10. Stevens DM, Crist RM, Stern ST (2020) Nanomedicine Reformulation of Chloroquine

and Hydroxychloroquine. *Molecules* 26:175.
<https://doi.org/10.3390/molecules26010175>

11. Ben-Zvi I, Kivity S, Langevitz P, Shoenfeld Y (2012) Hydroxychloroquine: From malaria to autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol* 42:145–153. <https://doi.org/10.1007/s12016-010-8243-x>
12. Bansal P, Goyal A, Cusick A, et al (2021) Hydroxychloroquine: a comprehensive review and its controversial role in coronavirus disease 2019. *Ann Med* 53:117–134. <https://doi.org/10.1080/07853890.2020.1839959>
13. Chatre C, Roubille F, Vernhet H, et al (2018) Cardiac Complications Attributed to Chloroquine and Hydroxychloroquine: A Systematic Review of the Literature. *Drug Saf* 41:919–931. <https://doi.org/10.1007/s40264-018-0689-4>
14. Pushpanjali PA, Manjunatha JG, Hareesha N, et al (2022) Electrocatalytic Determination of Hydroxychloroquine Using Sodium Dodecyl Sulphate Modified Carbon Nanotube Paste Electrode. *Top Catal*. <https://doi.org/10.1007/s11244-022-01568-8>
15. FDA (2017) Emergency Use Authorization of Medical Products and Related Authorities
16. Cortegiani A, Ingoglia G, Ippolito M, et al (2020) A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19. *J Crit Care* 57:279–283. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.03.005>
17. Kaur K, Kaushal S, Kaushal I (2020) Therapeutic status of hydroxychloroquine in COVID-19: A review. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 36:S160–S165. https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_313_20
18. Hernandez A V., Phan MT, Rocco J, et al (2021) Efficacy and safety of hydroxychloroquine for hospitalized covid-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Med* 10:. <https://doi.org/10.3390/jcm10112503>
19. Satarker S, Ahuja T, Banerjee M, et al (2020) Hydroxychloroquine in COVID-19: Potential Mechanism of Action Against SARS-CoV-2. *Curr Pharmacol Reports* 6:203–211. <https://doi.org/10.1007/s40495-020-00231-8>
20. Yao X, Ye F, Zhang M, et al (2020) In vitro antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis* 71:732–739.

<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa237>

21. Chorin E, Wadhvani L, Magnani S, et al (2020) QT interval prolongation and torsade de pointes in patients with COVID-19 treated with hydroxychloroquine/azithromycin. *Heart Rhythm* 17:1425–1433. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2020.05.014>
22. Rosenberg ES, Dufort EM, Udo T, et al (2020) Association of Treatment with Hydroxychloroquine or Azithromycin with In-Hospital Mortality in Patients with COVID-19 in New York State. *JAMA - J Am Med Assoc* 323:2493–2502. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8630>
23. Doyno C, Sobieraj DM, Baker WL (2020) Toxicity of chloroquine and hydroxychloroquine following therapeutic use or overdose. *Clin Toxicol.* <https://doi.org/10.1080/15563650.2020.1817479>
24. Boulware DR, Pullen MF, Bangdiwala AS, et al (2020) A Randomized Trial of Hydroxychloroquine as Postexposure Prophylaxis for Covid-19. *N Engl J Med* 383:517–525. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2016638>
25. Maisonnasse P, Guedj J, Contreras V, et al (2020) Hydroxychloroquine use against SARS-CoV-2 infection in non-human primates. *Nature* 585:584–587. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2558-4>
26. Das S, Ramachandran AK, Birangal SR, et al (2021) The controversial therapeutic journey of chloroquine and hydroxychloroquine in the battle against SARS-CoV-2: A comprehensive review. *Med Drug Discov* 10:100085. <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2021.100085>
27. Cochin M, Touret F, Driouich JS, et al (2022) Hydroxychloroquine and azithromycin used alone or combined are not effective against SARS-CoV-2 ex vivo and in a hamster model. *Antiviral Res* 197:. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2021.105212>
28. 6883-bula-da-hidroxiclороquina @ pfarma.com.br
29. Petrie B, Barden R, Kasprzyk-Hordern B (2015) A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Res* 72:3–27. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.053>
30. Revilla Pacheco C, Terán Hilaes R, Colina Andrade G, et al (2021) Emerging

- contaminants, SARS-COV-2 and wastewater treatment plants, new challenges to confront: A short review. *Bioresour Technol Reports* 15:. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100731>
31. Miguel P, Sousa V De, Cintia F, De OV (2021) Hidroxicloroquina : Contaminante Emergente Na Matriz Aquática No Pós-Pandemia. *Encontros Univ da UFC* 2021
 32. Ferraz LR de M, dos Santos FLA, Ferreira P de A, et al (2014) Clinical, pharmacokinetic and technological aspects of the hydroxychloroquine sulfate. *IOSR J Pharm* 04:53–64. <https://doi.org/10.9790/3013-04011053064>
 33. AMMAR AA, SALEM HA, ELADAWY SA, et al (2020) Development And Clinical Evaluation Of Topical Hydroquinone Niosomal Gel Formulation For The Treatment Of Melasma. *Int J Appl Pharm* 12:228–236. <https://doi.org/10.22159/ijap.2020v12i4.34304>
 34. El-Koussi WM, Atia NN, Saleh GA, Hammam N (2019) Innovative HPTLC method for simultaneous determination of ternary mixture of certain DMARDs in real samples of rheumatoid arthritis patients: an application of quality by design approach. *J Chromatogr B* 1124:135–145. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.05.038>
 35. Armstrong N, Richez M, Raoult D, Chabriere E (2017) Simultaneous UHPLC-UV analysis of hydroxychloroquine, minocycline and doxycycline from serum samples for the therapeutic drug monitoring of Q fever and Whipple’s disease. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* 1060:166–172. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.06.011>
 36. Singh S, Sharma N, Singla YP, Arora S (2016) Development and validation of UV-Spectrophotometric method for quantitative estimation of nefopam hydrochloride in polymethacrylate nanospheres. *Int J Pharm Pharm Sci* 8:414–419
 37. Soichot M, Mégarbane B, Houzé P, et al (2014) Development, validation and clinical application of a LC-MS/MS method for the simultaneous quantification of hydroxychloroquine and its active metabolites in human whole blood. *J Pharm Biomed Anal* 100:131–137. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.07.009>
 38. Wang LZ, Ong RYL, Chin TM, et al (2012) Method development and validation for rapid quantification of hydroxychloroquine in human blood using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 61:86–92. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.11.034>

39. Shrivastava A (2012) Analytical methods for venlafaxine hydrochloride and metabolites determinations in different matrices. *Syst Rev Pharm* 3:42–50. <https://doi.org/10.4103/0975-8453.107141>
40. Arguelho MLPM, Andrade JF, Stradiotto NR (2003) Electrochemical study of hydroxychloroquine and its determination in plaquenil by differential pulse voltammetry. *J Pharm Biomed Anal* 32:269–275. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(02\)00669-6](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(02)00669-6)
41. Mater Mahnashi H, Mahmoud AM, Saad Alkahtani A, El-Wekil MM (2021) Simultaneous electrochemical detection of azithromycin and hydroxychloroquine based on VS2 QDs embedded N, S @graphene aerogel/cCNTs 3D nanostructure. *Microchem J* 163:105925. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.105925>
42. Deroco PB, Vicentini FC, Oliveira GG, et al (2014) Square-wave voltammetric determination of hydroxychloroquine in pharmaceutical and synthetic urine samples using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *J Electroanal Chem* 719:19–23. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.01.037>
43. Ghoreishi SM, Attaran AM, Amin AM, Khoobi A (2015) Multiwall carbon nanotube-modified electrode as a nanosensor for electrochemical studies and stripping voltammetric determination of an antimalarial drug. *RSC Adv* 5:14407–14415. <https://doi.org/10.1039/c4ra16357e>
44. R.CROUCHER DASFJH. S (2000) *Analise Instrumental*
45. Uslu B, Ozkan SA (2011) Electroanalytical Methods for the Determination of Pharmaceuticals: A Review of Recent Trends and Developments. *Anal Lett* 44:2644–2702. <https://doi.org/10.1080/00032719.2011.553010>
46. Pacheco WF, Semaan FS, De Almeida VGK, et al (2013) Voltammetry: A brief review about concepts. *Rev Virtual Quim* 5:516–537. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130040>
47. Trindade JM, Martiniano LC, Goncalves VRA, et al (2012) Anodic stripping voltammetry coupled with design of experiments for simultaneous determination of Zn⁺², Cu⁺², Pb⁺², and Cd⁺² in gasoline. *Fuel* 91:26–32. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.06.015>
48. Miguel EM, da Cunha ALMC, Pacheco WF, et al (2010) Bismuth Film Anodic Stripping

- Voltammetry for the Determination of Lead in Kerosene: A Metrological Study. *Electroanalysis* 22:1505–1510. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elan.200900518>
49. Piech R, Baś B, Kubiak WW, Paczosa-Bator B (2012) Fast cathodic stripping voltammetric determination of elemental sulfur in petroleum fuels using renewable mercury film silver based electrode. *Fuel* 97:876–878. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.01.079>
 50. Gonçalves A, Silva DA, Eletroanalítica D, et al (2020) 2020
 51. Santos KD (2013) Determinação Eletroanalítica Dos Hormônios Estriol E Estrona Em Amostras De Formulações Farmacêuticas , Fluidos Biológicos E Alimentos Florianópolis. 133
 52. de Oliveira S, Silva J, Sant’Anna MVS, Gevaerd A, et al (2021) A Novel Carbon Nitride Nanosheets-based Electrochemical Sensor for Determination of Hydroxychloroquine in Pharmaceutical Formulation and Synthetic Urine Samples. *Electroanalysis* 33:2152–2160. <https://doi.org/10.1002/elan.202100170>
 53. Ghoreishi SM, Behpour M, Khoobi A, Salavati-Niasari M (2013) Electrochemical study of a self-assembled monolayer of N,N'-bis[(E)- (1-pyridyl) methylidene]-1,3-propanediamine formed on glassy carbon electrode: Preparation, characterization and application. *Anal Methods* 5:6727–6733. <https://doi.org/10.1039/c3ay41480a>
 54. Huilan Zhang, Cheng L, Shang H, et al (2021) A Novel Electrochemical Sensor Based on Reduced Graphene Oxide–TiO₂ Nanocomposites with High Selectivity for the Determination of Hydroxychloroquine. *Russ J Electrochem* 57:872–884. <https://doi.org/10.1134/S1023193521080152>
 55. Souza D de, Machado SAS, Avaca LA (2003) Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. *Quim Nova* 26:81–89. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422003000100015>
 56. Nguyen HD, Pramanik A, Basak AK, et al (2022) A critical review on additive manufacturing of Ti-6Al-4V alloy: Microstructure and mechanical properties. *J Mater Res Technol* 18:4641–4661. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2022.04.055>
 57. Silva AL, Salvador GM da S, Castro SVF, et al (2021) A 3D Printer Guide for the Development and Application of Electrochemical Cells and Devices. *Front Chem* 9:.

- <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.684256>
58. Minhat M, Vyatkin V, Xu X, et al (2009) A novel open CNC architecture based on STEP-NC data model and IEC 61499 function blocks. *Robot Comput Integr Manuf* 25:560–569. <https://doi.org/10.1016/j.rcim.2008.03.021>
 59. Ambrosi A, Pumera M (2016) 3D-printing technologies for electrochemical applications. *Chem Soc Rev* 45:2740–2755. <https://doi.org/10.1039/C5CS00714C>
 60. Browne MP, Redondo E, Pumera M (2020) 3D Printing for Electrochemical Energy Applications. *Chem Rev* 120:2783–2810. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00783>
 61. Vaněčková E, Bouša M, Nováková Lachmanová Š, et al (2020) 3D printed polylactic acid/carbon black electrodes with nearly ideal electrochemical behaviour. *J Electroanal Chem* 857:113745. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113745>
 62. Ambrosi A, Pumera M (2016) 3D-printing technologies for electrochemical applications. *Chem Soc Rev* 45:2740–2755. <https://doi.org/10.1039/c5cs00714c>
 63. Nasiri S, Khosravani MR (2020) Progress and challenges in fabrication of wearable sensors for health monitoring. *Sensors Actuators, A Phys* 312:112105. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2020.112105>
 64. Katseli V, Economou A, Kokkinos C (2019) Single-step fabrication of an integrated 3D-printed device for electrochemical sensing applications. *Electrochem commun* 103:100–103. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.05.008>
 65. Fiore L, De Lellis B, Mazzaracchio V, et al (2022) Smartphone-assisted electrochemical sensor for reliable detection of tyrosine in serum. *Talanta* 237:122869. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122869>
 66. Cardoso RM, Kalinke C, Rocha RG, et al (2020) Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review. *Anal Chim Acta* 1118:73–91. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.03.028>
 67. Wei X, Li D, Jiang W, et al (2015) 3D Printable Graphene Composite. *Sci Rep* 5:1–7. <https://doi.org/10.1038/srep11181>
 68. Rocha RG, Ribeiro JS, Santana MHP, et al (2021) 3D-printing for forensic chemistry: voltammetric determination of cocaine on additively manufactured graphene–polylactic

- acid electrodes. *Anal Methods* 13:1788–1794. <https://doi.org/10.1039/D1AY00181G>
69. Cardoso RM, Silva PRL, Lima AP, et al (2020) 3D-Printed graphene/polylactic acid electrode for bioanalysis: Biosensing of glucose and simultaneous determination of uric acid and nitrite in biological fluids. *Sensors Actuators B Chem* 307:127621. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127621>
 70. Muñoz J, Pumera M (2020) Accounts in 3D-Printed Electrochemical Sensors: Towards Monitoring of Environmental Pollutants. *ChemElectroChem* 7:3404–3413. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/celec.202000601>
 71. Richter EM, Rocha DP, Cardoso RM, et al (2019) Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform. *Anal Chem* 91:12844–12851. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573>
 72. Stefano JS, Kalinke C, Da Rocha RG, et al (2022) Electrochemical (Bio)Sensors Enabled by Fused Deposition Modeling-Based 3D Printing: A Guide to Selecting Designs, Printing Parameters, and Post-Treatment Protocols. *Anal Chem* 94:6417–6429. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c05523>
 73. Tan C, Nasir MZM, Ambrosi A, Pumera M (2017) 3D Printed Electrodes for Detection of Nitroaromatic Explosives and Nerve Agents. *Anal Chem* 89:8995–9001. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b01614>
 74. Duarte LC, Baldo TA, Silva-Neto HA, et al (2022) 3D printing of compact electrochemical cell for sequential analysis of steroid hormones. *Sensors Actuators B Chem* 364:131850. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.131850>
 75. João AF, Rocha RG, Matias TA, et al (2021) 3D-printing in forensic electrochemistry: Atropine determination in beverages using an additively manufactured graphene-polylactic acid electrode. *Microchem J* 167:.. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106324>
 76. Castro S, Rocha R, João A, et al (2021) Promising Applications of Additive-Manufactured (3D-printed) Electrochemical Sensors for Forensic Chemistry. *Brazilian J Anal Chem* 9:79–105. <https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.rv-50-2021>
 77. Rocha DP, Squissato AL, da Silva SM, et al (2020) Improved electrochemical detection of metals in biological samples using 3D-printed electrode: Chemical/electrochemical

- treatment exposes carbon-black conductive sites. *Electrochim Acta* 335:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.135688>
78. Cardoso RM, Mendonça DMH, Silva WP, et al (2018) 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors. *Anal Chim Acta* 1033:49–57. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.021>
79. Cardoso RM, Castro SVF, Silva MNT, et al (2019) 3D-printed flexible device combining sampling and detection of explosives. *Sensors Actuators, B Chem* 292:308–313. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.04.126>
80. Di-Oliveira M, Rocha RG, de Faria L V, et al (2022) Carbon-Black Integrated Polylactic Acid Electrochemical Sensor for Chloramphenicol Determination in Milk and Water Samples. *J Electrochem Soc* 169:047517. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ac6454>
81. João AF, de Faria L V., Ramos DLO, et al (2022) 3D-printed carbon black/polylactic acid electrochemical sensor combined with batch injection analysis: A cost-effective and portable tool for naproxen sensing. *Microchem J* 180:107565. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107565>
82. Inoque NIG, João AF, de Faria L V., Muñoz RAA (2022) Electrochemical determination of several biofuel antioxidants in biodiesel and biokerosene using polylactic acid loaded with carbon black within 3D-printed devices. *Microchim Acta* 189:1–11. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05152-x>
83. Lisboa TP, Alves GF, de Faria LV, et al (2022) 3D-printed electrode an affordable sensor for sulfanilamide monitoring in breast milk, synthetic urine, and pharmaceutical formulation samples. *Talanta* 247:123610. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123610>
84. Ataíde VN, Rocha DP, de Siervo A, et al (2021) Additively manufactured carbon/black-integrated polylactic acid 3Dprinted sensor for simultaneous quantification of uric acid and zinc in sweat. *Microchim Acta* 188:1–11. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05007-5>
85. Silva-Neto HA, Dias AA, Coltro WKT (2022) 3D-printed electrochemical platform with multi-purpose carbon black sensing electrodes. *Microchim Acta* 189:. <https://doi.org/10.1007/s00604-022-05323-4>
86. Vaněčková E, Bouša M, Shestivska V, et al (2021) Electrochemical Reduction of Carbon

- Dioxide on 3D Printed Electrodes. *ChemElectroChem* 8:2137–2149. <https://doi.org/10.1002/celc.202100261>
87. 1323 PEM (2009) *British Pharmacopoeia 2009 Volume 3*
 88. de Moura Ferraz LR, Santos FLA, Ferreira PA, et al (2014) Quality By Design In The Development And Validation Of Analytical Method By Ultraviolet-Visible Spectrophotometry For Quantification Of Hydroxychloroquine Sulfate
 89. Manzanares Palenzuela CL, Novotný F, Krupička P, et al (2018) 3D-Printed Graphene/Poly(lactic Acid) Electrodes Promise High Sensitivity in Electroanalysis. *Anal Chem* 90:5753–5757. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00083>
 90. dos Santos PL, Katic V, Loureiro HC, et al (2019) Enhanced performance of 3D printed graphene electrodes after electrochemical pre-treatment: Role of exposed graphene sheets. *Sensors Actuators B Chem* 281:837–848. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.11.013>
 91. Rocha DP, Squissato AL, da Silva SM, et al (2020) Improved electrochemical detection of metals in biological samples using 3D-printed electrode: Chemical/electrochemical treatment exposes carbon-black conductive sites. *Electrochim Acta* 335:135688. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.135688>
 92. Laviron E, Vallat A, Meunier-Prest R (1994) The reduction mechanism of aromatic nitro compounds in aqueous medium. *J Electroanal Chem* 379:427–435. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(94\)87167-1](https://doi.org/10.1016/0022-0728(94)87167-1)
 93. Veloso WB, Almeida AT de FO, Ribeiro LK, et al (2022) Rapid and sensitivity determination of macrolides antibiotics using disposable electrochemical sensor based on Super P carbon black and chitosan composite. *Microchem J* 172:.. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106939>
 94. Peng JY, Hou CT, Liu XX, et al (2011) Electrochemical behavior of azithromycin at graphene and ionic liquid composite film modified electrode. *Talanta* 86:227–232. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.09.005>
 95. Revision Bulletin, Hydroxychloroquine Sulfate Tablets monograph (2022) Dissolution test tablet. USP.org