
**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE CÉLULAS E
ELETRODOS IMPRESSOS EM 3D PARA A TRIAGEM E
DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS DE INTERESSE
FORENSE**

Priscila Alves Ferreira



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA - INQUI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Campo Grande

2022



Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Instituto de Química - INQUI
Programa de Pós-Graduação em Química



DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE CÉLULAS E ELETRODOS IMPRESSOS EM 3D PARA A TRIAGEM E DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS DE INTERESSE FORENSE

Priscila Alves Ferreira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Nível de Doutorado – da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do título de Doutora em Química (área de concentração: Química).

Orientador: Prof. Dr. Valdir Souza Ferreira

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Amorim Bezerra da Silva

Campo Grande - 2022



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



ATA DE DEFESA DE TESE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DOUTORADO

Aos vinte dias do mês de maio do ano de dois mil e vinte e dois, às oito horas, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Valdir Souza Ferreira (UFMS), Antonio Rogério Fiorucci (UEMS), Magno Aparecido Gonçalves Trindade (UFGD), Rafael Machado Dornellas (UFF), Rodrigo Amorim Bezerra da Silva (UFU) e Silvio Cesar de Oliveira (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: PRISCILA ALVES FERREIRA, CPF 04401386124, do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE CÉLULAS E ELETRODOS IMPRESSOS EM 3D PARA A TRIAGEM E DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS DE INTERESSE FORENSE" e orientação de Valdir Souza Ferreira. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Tese. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue::

EXAMINADOR	AVALIAÇÃO
Dr. Valdir Souza Ferreira (Interno)	APROVADA
Dr. Antonio Rogério Fiorucci (Externo)	APROVADA
Dr. João Batista Gomes de Souza (Interno) (Suplente)	-
Dr. Magno Aparecido Gonçalves Trindade (Externo)	APROVADA
Dr. Rafael Machado Dornellas (Externo)	APROVADA
Dr. Rodrigo Amorim Bezerra da Silva (Externo) (Coorientador)	APROVADA
Dr. Silvio Cesar de Oliveira (Interno)	APROVADA
Dr. Wallans Torres Pio dos Santos (Externo) (Suplente)	-

RESULTADO FINAL:

Aprovação	
Aprovação com revisão	X
Reprovação	

OBSERVAÇÕES:

Nada mais havendo a ser tratado, o Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas:

Presidente da Banca Examinadora

Aluna



Documento assinado eletronicamente por **Valdir Souza Ferreira, Professor do Magisterio Superior**, em 20/05/2022, às 13:45, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Magno Aparecido Gonçalves Trindade, Usuário Externo**, em 20/05/2022, às 14:07, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Amorim Bezerra da Silva, Usuário Externo**, em 20/05/2022, às 14:10, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Machado Dornellas, Usuário Externo**, em 20/05/2022, às 14:23, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **ANTONIO ROGERIO FIORUCCI, Usuário Externo**, em 20/05/2022, às 14:26, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Silvio Cesar de Oliveira, Professor do Magisterio Superior**, em 20/05/2022, às 15:14, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **PRISCILA ALVES FERREIRA, Usuário Externo**, em 20/05/2022, às 15:24, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, 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://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3249857** e o código CRC **B4EE2E1F**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Referência: Processo nº 23104.013734/2022-18

SEI nº 3249857

Porque Dele e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente.

Amém

Romanos 11.36

Agradecimentos

Nesse momento dos agradecimentos faltam palavras para externar todos os sentimentos que norteiam a minha mente, pois o doutorado é o fechamento de um longo processo que se iniciou em 2010. São tantos sentimentos, emoções e gratidão que o coração chega ficar apertado quando me recordo de todo o processo da minha caminhada científica. Não foi fácil chegar até aqui, houve muitos momentos desafiadores, mas eu nunca pensei em desistir dos meus estudos.

Em primeiro lugar eu quero agradecer a Deus, pois até aqui me ajudou o Senhor. Não posso deixar de agradecê-lo em primeiro lugar, não por obrigação ou via de regra, mas por saber que Ele me guiou e me sustentou em toda essa trajetória. Deus sempre esteve cuidando de mim e nos momentos mais difíceis Ele sempre esteve no controle de tudo. Não sou digna de merecer tanto amor e cuidado de Deus, mas mesmo assim Ele nunca me desamparou e sempre foi meu porto seguro.

Em segundo lugar, eu agradeço a minha família pelo apoio inigualável e incondicional. A família sempre foi a minha base e me orgulho disso. Se hoje eu estou na minha carreira científica é graças ao incentivo da minha família, pois eles nunca me impediram de iniciar e de prosseguir com os meus estudos.

Ao prof. Dr. Rodrigo Amorim Bezerra da Silva (IQ-UFU, RENAGRI, campus Monte Carmelo-MG) por acreditar em mim e ter aceitado ser meu orientador no mestrado e atualmente meu coorientador no doutorado. Ele é um professor que desde o início me inspirou a ser uma pesquisadora melhor a cada momento. Sempre que eu me sentia confusa ou perdida na pesquisa, ele sempre me guiava pelo caminho certo.

Ao prof. Dr. Valdir Souza Ferreira por ter aceitado me orientar no doutorado. Muito obrigada pelos conselhos, apoio, orientações, paciência e pelos bate-papo informais no laboratório. Sei que em muitos casos a relação entre doutorando e orientador é cheia de tensão, mas você sempre foi muito solidário, calmo e compreensivo com todos os seus orientandos.

À prof. Dr. Adriana Evaristo de Carvalho por ceder espaço, reagentes e recursos no Laboratório de Materiais Aplicados a Eletroquímica (LME) na UFGD.

Ao Prof. Msc. Fabiano Mendonça de Oliveira pelas medidas eletroquímicas complementares e ao Prof. Dr. Edmar Isaías de Melo (IQ-UFU, RENAGRI, campus Monte Carmelo-MG) pela modelagem e construção da célula eletroquímica impressa em célula 3D.

Ao Laboratório Multiusuário da UFU pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura.

Ao perito criminal Dr. José Coelho Neto (Polícia Civil-MG) pela doação das amostras de medicamentos contrabandeados e falsificados.

Ao Dr. Rafael Melo Cardoso e Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz (IQ-UFU) pela confecção da célula BIA impressa em 3D.

À CAPES pelo apoio financeiro durante esses quatro anos.

O doutorado me proporcionou vivenciar novas experiências científicas e eu pude amadurecer e crescer mais um pouquinho nesse período. Esses quatro anos se passaram num piscar de olhos, quando olho para trás o sentimento de nostalgia é inevitável. Enfim, quero deixar registrado meus singelos agradecimentos a todos que contribuíram direta ou indiretamente com o meu doutorado, pois não cheguei sozinha até aqui.

Sumário

Capítulo I: Introdução Geral.....	25
1.1 Panorama: medicamentos falsificados, contrabandeados ou de baixa qualidade	26
1.2 Protocolo adotado pela Organização Mundial da Saúde para análise de medicamentos suspeitos.....	29
1.3 Métodos eletroanalíticos	37
1.4 Impressão tridimensional: breve histórico e tipos de tecnologias de impressão 3D	39
1.5 Aplicação da tecnologia 3D na eletroanalítica no desenvolvimento de células, sensores e eletrodos	52
1.6 Objetivos.....	60
1.6.1 Objetivo geral.....	60
1.6.2 Objetivos específicos.....	60
Capítulo II: Triagem rápida e determinação de tadalafila em produtos farmacêuticos por análise de injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica	62
2.1 Introdução	63
2.2 Metodologia	65
2.2.1 Reagentes, Soluções e Amostras.....	65
2.2.2 Instrumentação	66
2.2.3 Procedimentos de medição eletroquímica.....	67
2.2.4 Método Comparativo (Espectrofotometria UV)	67
2.3 Resultados e discussões	68
2.3.1 Estudos Voltamétricos.....	68
2.3.2 Determinação de TAD em produtos farmacêuticos por BIA-AD.....	69
2.3.3 Triagem de TAD puro por BIA-MPAD	73
2.3.4 Proposta de BIA / Amperometria vs Literatura	76
2.4 Conclusões	77
2.5. Perspectivas	78
Capítulo III: Uma célula eletroquímica impressa em 3D prática, portátil e compatível com vários eletrodos: um estudo para amostragem direta de drogas sólidas e triagens voltamétricas.....	79
3.1 Introdução	80
3.2 Metodologia	82

3.2.1 Reagentes, amostras e soluções.....	82
3.2.2 Instrumentação	82
3.2.3 Projeto e fabricação da 3D-MSEC.....	83
3.2.4 Eletrodos de trabalho avaliados na 3D-MSEC.....	86
3.2.5 Amostragem de drogas sólidas e detecção eletroquímica na mesma plataforma	88
3.3 Resultados e discussões	90
3.3.1 Caracterização superficial dos eletrodos de trabalho utilizados na 3D-MSEC	90
3.3.2 Desempenho eletroquímico da 3D-MSEC e eletrodos de trabalhos avaliados na presença de substâncias eletroativas modelo.....	92
3.3.3 3D-MSEC na triagem de drogas: sensores flexíveis de baixo custo como plataformas únicas para amostragem direta sobre sólidos e detecção voltamétrica.	102
3.3.4 Aplicação da 3D-MSEC na análise quantitativa de EE2 em contraceptivo.	110
3.4 Conclusão.....	111
Capítulo IV: Triagem direta e determinação de citrato de sildenafil em comprimidos autênticos e falsificados empregando eletrodo de folha de grafite e uma célula eletroquímica miniaturizada impressa em 3D	113
4.1 Introdução	114
4.2 Metodologia	116
4.2.1 Instrumentação	116
4.2.2 Reagentes, amostras e soluções.....	116
4.2.3 Medidas voltamétricas.....	117
4.2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	117
4.3 Resultados e discussões	118
4.3.1 Perfil eletroquímico do SC na folha de grafite por voltametria cíclica.....	118
4.3.2 Estudo da velocidade de varredura.....	119
4.3.3 Detecção eletroquímica do SC por diferentes técnicas voltamétricas de pulso	121
4.3.4 Otimização dos parâmetros da VOQ.....	123
4.3.5 Estudo da ativação eletroquímica do GS.....	126
4.3.6 Influência do pH do eletrólito suporte.....	127
4.3.7 Parâmetros de confiabilidade analítica para detecção de SC	128

4.3.8 Determinação de SC em formulações farmacêuticas e em HPLC	131
4.3.9 Emprego da 3D-MSEC na triagem eletroquímica de citrato de sildenafila em amostras apreendidas.....	134
4.4 Conclusões	137
Capítulo V: Conclusão geral	138
Referências	140

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Modo de perturbação do eletrodo de trabalho na voltametria de onda quadrada.....	38
Figura 2 – Etapas envolvidas desde a elaboração até a impressão de uma peça tridimensional.....	40
Figura 3 – Diagrama ilustrando os componentes e o funcionamento da Estereolitografia (SLA).....	42
Figura 4 - Esquema de funcionamento de uma impressora de Sinterização Seletiva a Laser (SLS).....	43
Figura 5 – Diagrama esquemático de funcionamento de uma impressora 3D de Modelagem por Fusão e Deposição (FDM).	45
Figura 6 – Esquema de funcionamento de uma impressora LOM.	47
Figura 7 – Os capacetes utilizados pelos astronautas Bob Behnken e Doug Hurley em uma missão espacial com peças impressas em 3D (A); Típicos materiais de laboratório (B); Protótipo para treinar a coleta de exame de COVID-19 (C); Modelo cardíaco de um paciente real para simulação pré-cirúrgica (D); Peça construída usando uma impressora 3D a bordo do foguete chinês Chang Zheng 5B (E) e garras desenvolvidas para capturar espécies marinhas em águas profundas (F).	49
Figura 8 – Protetores faciais (Prusa®) (A); Máscara de proteção facial com filtro substituível (B); Válvulas respiratórias (Isinnova®) (C); Máscara de mergulho adaptada com uma válvula Charllote impressa em 3D para atuar como respirador (Isinnova®) (D) e cotonetes/swab de baixo custo desenvolvidos para exame de COVID-19 (E).....	50
Figura 9 – Comparação do design de uma impressão tridimensional da torre Eiffel realizada por uma impressora 3D (A) e por uma caneta 3D (B).	51
Figura 10 – Representação simplificada de uma caneta 3D.....	52
Figura 11 – Número de artigos publicados encontrados após pesquisa no Web of Science usando as palavras chaves “electrodes and 3D printing”, “3D printing” e “Cell and 3D printing”na área de eletroquímica.....	53
Figura 12 - Estrutura química da tadalafila.	63
Figura 13 - (A) Voltamogramas cíclicos em meio de tampão BR 0,04 mol L ⁻¹ (pH 4,0) com 5% de DMSO antes e após a adição de 5,0 μmol L ⁻¹ TAD no eletrodo BDD pré-tratado catodicamente. (B) Dependência do potencial de pico anódico (E _{pa}) e corrente de pico anódico (i _{pa}) de TAD como funções do pH. v: 50 mVs ⁻¹	69

Figura 14 - Médias das correntes de pico anódico (\pm SD) para cinco injeções de TAD 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no sistema BIA em uma faixa de (A) potenciais aplicados (0 a 1,6 V) e (B) volumes de injeção (10 a 300 μL) e velocidade de injeção (25–270 $\mu\text{L s}^{-1}$). Eletrólito: Tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH 4,0) com 5% (v/v) de DMSO; Agitação mecânica: 1400 rpm; E = + 1,3 V (em B).	70
Figura 15 - (A) Amperograma (após correção da linha de base) para injeções do eletrólito (E), das soluções de TAD (a: 0,5; b: 1,0; c: 5,0; d: 10,0; e: 15,0; f: 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e comprimidos diluídos de TAD (s_1 – s_4); (B) respectivas curvas de calibração crescente (preto) e decrescente (cinza). E: tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH 4,0) com 5% (v/v) de DMSO; Volume de injeção: 50 μL ; Vazão: 175 $\mu\text{L s}^{-1}$. E: +1,3 V.....	72
Figura 16 - (A) Amperogramas por BIA-MPA obtidas nos três pulsos de potencial (+1,0, +1,2 e +1,5 V) após injeções em triplicata de soluções com concentrações crescentes de TAD (a – g: 10–150 $\mu\text{mol L}^{-1}$), Cialis [®] (1), Cialis [®] adulterado com cafeína (2), dipirona (3), citrato de sildenafila (4) e paracetamol (5); (B) Respectivas razões médias (\pm SD) entre as correntes de pico ($R_1: i_{pa1,2V}/i_{pa1,0V}$; $R_2: i_{pa1,5V}/i_{pa1,2V}$, $R_3: i_{pa1,5V}/i_{pa1,0V}$). Tempo de pulso: 40 ms; Velocidade de injeção: 70 $\mu\text{L s}^{-1}$; Volume de injeção: 75 μL . Eletrólito suporte: Tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH 4,0) com 5% (v/v) de DMSO.....	75
Figura 17 – Projeto de fabricação da 3D-MSEC (formato .STL) usando o software de código aberto FreeCad [®]	83
Figura 18 - (A) Representação esquemática do processo de construção da 3D-MSEC, mostrando cada peça impressa em 3D : bastão antes (I a) e depois (I b) da inserção de um fio de cobre soldado à placa metálica (contato elétrico); (II a) tampa com cavidades e orifícios, após (II b) inserção dos fios de cobre nos orifícios, (II c) deposição do filamento condutor com a caneta 3D e (II d) polimento mecânico e ativação eletroquímica; (III) Recipiente de solução. (B) Esquema da 3D-MSEC desmontada I b, II d, III com O’ring de borracha e eletrodo de trabalho plano e (C) célula totalmente montada. (D) Imagem real da 3D-MSEC sustentada por um suporte universal (tamanho comparado a uma moeda de R\$ 1,00).....	85
Figura 19 - Fotos complementares da 3D-MSEC com os três componentes (bastão, tampa e recipiente) desmontados (A) e montados (B); vistas da tampa: vista lateral (c1), superior (c2) e interna com O’ring encaixado (c3); (D) Tampa (vista interna), O’ring e os eletrodos de trabalho (CB-PLA, GS e BDD); (E) Arranjo opcional da 3D-MSEC com	

RE comercial (Ag|AgCl|KCl) e CE (Pt); (F) Disposição para triagem de drogas após a adição de solução (500 µL) sobre a tampa. 86

Figura 20 - Imagens das etapas de construção dos eletrodos CB-PLA impressos com caneta 3D: (A) Perfuração do policarbonato (moldes padronizados); (B) extrusão do filamento condutor com a caneta 3D nos moldes; (C) CB-PLA depositado; (D) CB-PLA após polimento superficial (lixamento manual); (E) Tarugos removidos prontos para serem montados na 3D-MSEC. 88

Figura 21 - Procedimento adotado para a amostragem no sólido de cada droga usando os sensores flexíveis: abrasão entre o sensor e a droga no papel filtro (A), sensor montado na 3D-MSEC (B) e por último a medida eletroquímica (C). 89

Figura 22 - Vista superior da 3D-MSEC com diferentes eletrodos de trabalho planares (BDD, GS ou CB-PLA impresso com caneta 3D e dois CB-PLA na tampa atuando como PRE e CE (A) com zoom na superfície de cada ET para ilustrar as respectivas imagens obtidas por MEV (B). 91

Figura 23 – Comparação entre os eletrodos CB-PLA após polimento (P) e após polimento mais ativação eletroquímica (P/EA) por MEV. 91

Figura 24 – Comparação entre os eletrodos CB-PLA após polimento (P) e após polimento e ativação eletroquímica (P/AE) por EIS (A) e por voltametria cíclica (B). Condições (A, B): 1:1 mmol L⁻¹ K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ em KCl 0,10 mol L⁻¹; (A) Faixa de frequência = 0,001 a 50 kHz, Amplitude = 10 mV, Pontos por década = 10; (B) v = 50 mV s⁻¹, AE: + 1,4 V/200 s e - 1,0V/200 s em NaOH 0,5 mol L⁻¹. 92

Figura 25 - Voltamogramas cíclicos obtidos com BDD usando PRE e CE da tampa da célula (CB-PLA) e os eletrodos comerciais fio de Pt e Ag|AgCl|KCl_{sat.} na presença de 1,0 mmol L⁻¹ de ferricianeto de potássio (A) e 0,20 mmol L⁻¹ de paracetamol (B). Eletrólitos: (A) KCl 0,10 mol L⁻¹ e (B) Tampão de acetato 0,10 mol L⁻¹ (pH 4,70). As linhas tracejadas correspondem aos respectivos brancos. v = 50 mV s⁻¹. 94

Figura 26 - Espectroscopia de impedância eletroquímica (diagrama de Nyquist) para BDD, GS e CB-PLA impresso em 3D na presença de 1:1 mmol L⁻¹ K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ em KCl 0,1 mol L⁻¹ e modelagem de circuito equivalente (inserção) com elementos de circuito (C: capacitor, R: resistores, W: impedância de Warburg). Condições: Faixa de frequência: 1 Hz a 50.000 Hz, Amplitude: 10 mV, Pontos por década: 10. 95

Figura 27 – Voltamogramas cíclicos realizados na presença de $K_3[Fe(CN)_6]$ $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ usando cinco CB-PLA diferentes fabricados em caneta 3D (A) e impressora 3D (B). Eletrólito: KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.	96
Figura 28 – Voltamogramas cíclicos em $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ferricianeto de potássio e KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura (v) (A) e as respectivas i_{pa} vs. $v^{1/2}$ e i_{pc} vs. $v^{1/2}$ para BDD, GS e CB-PLA impresso com caneta 3D (B).	97
Figura 29 - Curvas VC para diferentes eletrodos de trabalho (BDD, GS e CB-PLA) na 3D-MSEC na ausência (---) e na presença (—) de (A) paracetamol $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) cafeína $100 \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte (A e B): tampão de acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,70). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .	100
Figura 30 - Curvas VPD usando a 3D-MSEC com diferentes ET (BDD, GS e CB-PLA) para concentrações crescentes de paracetamol (A) e dez medições sucessivas de paracetamol $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ para BDD e CB-PLA e $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ para GS (B). As inserções em (A) mostram as respectivas curvas analíticas para o paracetamol (média das correntes de pico com desvio padrão em função da concentração de paracetamol). Condições VPD: E_a : 100 mV , v : 70 mVs^{-1} , t : 7 ms^{143} . Eletrólito de suporte: tampão de acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7).	101
Figura 31 – Curvas VOQ realizadas após a amostragem de cada droga (LOS, SC, TAD e EE2) em GS e CB-PLA impresso em caneta 3D com os padrões analíticos (linhas azuis) e formas farmacêuticas (linhas pretas). Os respectivos brancos (abrasão do sensor em um papel filtro sem a droga) são mostrados como linhas tracejadas. Condições: Seção 3.2.5.	104
Figura 32 – Voltamogramas de onda quadrada realizados com os eletrodos GS/CB-PLA na ausência (---) e na presença (—) de soluções individuais de LOS ($50,0/150,0 \mu\text{mol L}^{-1}$), SC ($5,0/5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$), TAD ($5,0/5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) e EE2 ($5,0/20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$). Condições: Seção 3.2.5.	105
Figura 33 – Mecanismo de oxidação eletroquímica para cada droga: (A) losartana, (B) citrato de sildenafil, (C) 17α -etinilestradiol e (D) tadalafila.	106
Figura 34 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com GS para sucessivas varreduras de (A) SC impregnado na superfície ($n = 6$) e (B) solução de SC $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$). Eletrólito suporte: tampão BR (pH 4,0); Condições VOQ: $f = 20 \text{ Hz}$, $E_a = 30 \text{ mV}$, $E_s = 9 \text{ mV}$.	107
Figura 35 – Voltamogramas de onda quadrada registrados após a abrasão do pó das amostras (linha preta) e dos respectivos padrões (linha vermelha) de (A) paracetamol,	

(B) citrato de sildenafil e (C) tadalafila na superfície do GS. Condições: Seção 3.2.5.	108
Figura 36 – Curvas VOQ obtidas na 3D-MSEC com eletrodo GS para (A) EE2 na faixa de concentração de 0,0 a 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e respectiva curva de calibração (inserção) e (B) solução da amostra (linha vermelha) com três adições do padrão de EE2 (1,0, 1,5 e 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e respectiva curva de adição de padrão (inserção). Condições: VOQ ($f = 30\text{ Hz}$, $E_a = 40\text{ mV}$, $E_s = 5\text{ mV}$). Eletrólito suporte: tampão BR (pH 8,0).....	111
Figura 37 - Voltamogramas cíclicos registrados na presença e na ausência de SC 1,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na superfície de GS em TBR 0,04 mol L^{-1} (pH 4). Condições: $v = 50\text{ mV s}^{-1}$	118
Figura 38 - Mecanismo proposto para o primeiro pico anódico do SC ¹⁴⁸	119
Figura 39 - Voltamogramas cíclicos registrados na presença de SC 1,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no intervalo de 10 a 150 mV s^{-1} em meio de tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH 4).	120
Figura 40 – Relação entre i_p vs $v^{1/2}$ (A) e i_p vs v (B) para a oxidação eletroquímica de SC 1,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na superfície de GS em meio de tampão BR 0,040 mol L^{-1} (pH 4).	120
Figura 41 - Relação entre $\log i_{pa}$ vs $\log v$ para a oxidação de SC 1,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na superfície de GS em meio de tampão BR 0,040 mol L^{-1} (pH 4).	121
Figura 42 – Voltamogramas registrados em diferentes técnicas para eletrooxidação de SC 1,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ frente ao GS em meio de tampão BR 0,04 mol L^{-1} pH 4. Condições: VPD $t_{\text{modulação}} = 0,05\text{ s}$, intervalo de tempo = 0,50 s, $E_s = 5\text{ mV}$ e $E_a = 100\text{ mV}$ e $E_s = 5\text{ mV}$ e para VOQ ver Figura 42.	122
Figura 43 - Voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes frequências na presença de SC 1,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR 0,04 mol L^{-1} pH 4 (A) e correntes de pico obtidas (B). Condições: $E_a = 25\text{ mV}$ e $E_s = 5\text{ mV}$	124
Figura 44 - Voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes amplitudes na presença de SC 1,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR 0,04 mol L^{-1} pH 4 (A) e correntes de pico obtidas (B). Condições: $f = 20\text{ mV}$ e $E_s = 5\text{ mV}$	125
Figura 45 - Voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes incrementos de varredura na presença de SC 1,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR 0,04 mol L^{-1} pH 4 (A) e correntes de pico obtidas (B). Condições: $f = 20\text{ mV}$ e $E_a = 30\text{ mV}$	125
Figura 46 – Voltamogramas de onda quadrada (A) e respectivas correntes de pico (B) obtidas para SC 1,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sob as diferentes ativações do GS. Condições VOQ: tampão BR 0,04 (pH 4), $f = 20\text{ Hz}$, $E_a = 25\text{ mV}$ e $E_s = 5\text{ mV}$	126

- Figura 47** – Comparação das correntes residuais registradas após as medidas na presença de SC $1,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ incluindo a etapa de ativação ou sem ativação (S.A.) do GS. Condições VOQ: tampão BR 0,04 (pH 4), $f = 20 \text{ Hz}$, $E_a = 25 \text{ mV}$ e $E_s = 5 \text{ mV}$. 127
- Figura 48** - Voltamogramas de onda quadrada registrados na presença de SC $1,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ em distintos pHs (2 a 11). Condições: $f = 20 \text{ Hz}$, $E_a = 30 \text{ mV}$ e $E_s = 5 \text{ mV}$ 128
- Figura 49** - Curvas VOQ obtidas na 3D-MSEC com eletrodo GS para SC na faixa de concentração de $0,0$ a $1,28 \mu\text{mol L}^{-1}$ e respectivas curvas de calibração (inserção). Condições: $f = 20 \text{ mV}$, $E_s = 9 \text{ mV}$, $E_a = 30 \text{ mV}$ e tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4). 129
- Figura 50** – Curvas de VOQ para as soluções das amostras de Viagra[®] e genéricos, (linha rosa) seguida de duas adições de solução padrão de SC (linhas vermelha e azul) e respectivas curvas de adição de padrão (inserção). Condições iguais à Figura 49. 132
- Figura 51** – Voltamogramas de onda quadrada registrados na presença (linha preta) e na ausência (linha vermelha) dos medicamentos falsificados após a abrasão do pó sobre o sensor GS. Condições iguais à Figura 49. 136

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Dispositivos eletroquímicos impressos em 3D com suas respectivas técnicas, volumes, matérias-primas e procedimentos de ativação.....	56
Tabela 2 - Comparação dos resultados para determinação de TAD em comprimidos por BIA-AD e por espectrofotometria (UV).....	73
Tabela 3 - Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de tadalafila por BIA-AD e outros métodos eletroquímicos da literatura.	77
Tabela 4 - Custo e caracterização eletroquímica dos eletrodos de trabalho avaliados usando a sonda redox de ferricianeto de potássio.	99
Tabela 5 - Comparação entre os parâmetros analíticos obtidos para paracetamol em BDD, GS e CB-PLA montados na 3D-MSEC.	102
Tabela 6 - Valores de massa encontrados na superfície do eletrodo GS calculados usando a Lei de Faraday para os picos obtidos na primeira varredura após a coleta. ..	110
Tabela 7 - Correntes de pico e potenciais de pico obtidos para SC na 3D-MSEC em diferentes técnicas voltamétricas.	123
Tabela 8 - Parâmetros de confiabilidade analítica obtidas para a determinação de SC sobre a superfície de GS na VOQ.....	130
Tabela 9 - Comparação de métodos eletroquímicos encontrados na literatura para a determinação de citrato de sildenafila.	131
Tabela 10 - Comparação entre os teores de SC por comprimido obtidos por VOQ e HPLC na determinação de SC usando 3D-MSEC e GS.....	134

LISTA DE ABREVIACÕES

2PP: polimerização por dois fótons, do inglês “2-photon polymerization”

3D-MSEC: célula eletroquímica impressa em 3D compatível com vários sensores, do inglês “3D-printed multi sensor compatible electrochemical cell”

ABS: acrilonitrila butadieno estireno, do inglês “acrylonitrile butadiene styrene”

API: ingrediente ativo farmacêutico, do inglês “active pharmaceutical ingredients”

BDD: diamante dopado com boro, do inglês “boron-doped diamond”

BIA-AD: análise por injeção em batelada com detecção amperométrica, do inglês “Batch Injection Analysis with amperometric detection”

BR: Britton-Robinson

CB-PLA: ácido polilático com carbon black, do inglês “carbon black-polylactic acid”

CB: negro de carbono, do inglês “carbon black”

CCD: cromatografia em camada delgada

CE: contra eletrodo

CG: cromatografia gasosa

CG-MS: cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa, do inglês “mass spectrometry”

CLIP: produção contínua em interface líquida, do inglês “Continuous production in liquid interface”

DE: disfunção erétil

DMSO: dimetilsulfóxido

E_a : amplitude

E_s : incremento de potencial

EA: ativação eletroquímica, do inglês “electrochemical activation”

ET: eletrodo de trabalho

ECSA: área superficial eletroquimicamente ativa, do inglês “Electrochemical active surface area”

EE2: 17 α -etinilestradiol

E_p : potencial de pico

f : frequência

FDM: Modelagem por fusão e deposição, do inglês “fused deposition modeling”

FFF: Fabricação com filamento fundido

FTIR: espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, do inglês “Fourier-transform infrared spectroscopy”

GA: área geométrica, do inglês “geometric area”

GR: grafeno

GR-PLA: ácido polilático com grafeno, do inglês “graphene- polylactic acid”

GS: folha de grafite, do inglês “graphite sheet”

HIPS: poliestireno de alto impacto, do inglês “high impact polystyrene”

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês “high performance liquid chromatography”

i_{pa} : corrente de pico anódica

i_{pc} : corrente de pico catódica

J_{pa} : densidade de corrente

LC: cromatografia líquida, do inglês “liquid chromatography”

LC-MS: cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa, do inglês “Liquid chromatography–mass spectrometry”

LOD: limite de detecção, do inglês “limit of detection”

LOM: fabricação de objetos laminados, do inglês “laminated object manufacturing”

LOS: losartana

MPAD: detecção amperométrica de múltiplos pulsos

MS: espectrometria de massa, do inglês “mass spectrometry”

NIR: espectroscopia de infravermelho próximo, do inglês “near-infrared spectroscopy”

RMN: ressonância magnética nuclear

OMS: Organização Mundial da Saúde

PA: policapoliámidas

PC: policarbonato

PCL: policaprolactona

PDE5: enzima fosfodiesterase do tipo 5

PAD: detecção amperométrica pulsada, do inglês “pulsed amperometric detection”

PET: politereftalato de etileno

PETG: polietileno tereftalato de etileno glicol

PLA: ácido polilático, do inglês “polylactic acid”

PP: polipropileno

PRE: pseudo referência

Pt/NPGR-120/GCE: Carbono vítreo modificado com nanopartículas de Pt ancoradas em poros dopados com nitrogênio

PVA: álcool polivinílico, do inglês “polyvinyl alcohol”

R_{ct} : resistência a transferência de carga

RF: fator de rugosidade, do inglês “roughness factor”

RSD: desvio padrão relativo, do inglês “relative standard deviation”

S: inclinação da curva de calibração

SC: citrato de sildenafil, do inglês “sildenafil citrate”

SLA: estereolitografia, do inglês “stereolithography”

SLS: sinterização seletiva a laser, do inglês “selective laser sintering”

SLM: fusão seletiva a laser, do inglês “Selective laser melting”

SIS: sinterização de inibição seletiva, do inglês “selective inhibition sintering”

VOQ: voltametria de onda quadrada

TAD: tadalafila

TNT: 2,4,6-trinitrotolueno

TPE: elastômeros termoplásticos, do inglês “thermoplastic elastomers”

UV-Vis: espectroscopia na região do ultravioleta-visível

v : velocidade de varredura

VC: voltametría cíclica

VPD: voltametría de pulso diferencial

RESUMO

A disseminação dos medicamentos falsificados, contrabandeados e de baixa qualidade tem gerado preocupação nas autoridades sanitárias de vários países devido aos inúmeros riscos que apresentam para a população. As técnicas eletroanalíticas são uma alternativa rápida e de baixo custo para realizar a triagem de medicamentos ilegais no local de apreensão. No Capítulo II são apresentadas duas metodologias para a determinação e triagem rápida de tadalafila (TAD), usando uma célula de Análise por Injeção em Batelada (BIA) impressa em 3D com detecção por amperometria e amperometria de múltiplos pulsos, respectivamente. Os resultados obtidos foram comparados com a determinação de TAD por espectrofotometria e os dados estatísticos confirmam que não houve diferença entre os valores obtidos por ambas as técnicas. Já no segundo procedimento foi realizada a triagem de amostras de TAD adulteradas e por meio da normalização (razão) das correntes de pico foi possível distinguir as amostras autênticas e as adulteradas. No Capítulo III, foi proposta uma célula eletroquímica impressa em 3D compatível com vários eletrodos planares, composta por reservatório, bastão e tampa com os eletrodos de pseudo-referência e auxiliar feitos com filamento condutivo extrusado por uma caneta 3D. A 3D-MSEC foi aplicada na triagem de princípios ativos em medicamentos com histórico de falsificação/adulteração, como o citrato de sildenafil (SC), losartana, tadalafila e 17 α -etinilestradiol. Neste procedimento de triagem, foi realizada a abrasão direta do pó de cada droga no eletrodo de folha de grafite (GS), seguida da montagem na 3D-MSEC e registro do perfil voltamétrico na presença de apenas 500 μ L de eletrólito. Este conjunto é promissor para a triagem rápida e prática de medicamentos ilícitos para identificar a ausência ou presença do princípio ativo, bem como de impurezas eletroativas. No Capítulo IV, a 3D-MSEC/GS foi aplicada na triagem e determinação de SC em medicamentos brasileiros e paraguaios, e os resultados foram comparados com HPLC. Este dispositivo também foi aplicado na triagem de medicamentos de SC apreendidos pela Polícia Civil de Belo Horizonte-MG. Os resultados mostraram a presença apenas de SC em algumas amostras e combinado com outras substâncias em outras.

Palavras-chave: Impressão 3D; Manufatura aditiva 3D; Modelagem por fusão e deposição (FDM); Caneta 3D; Triagem de medicamentos falsificados.

ABSTRACT

The spread of counterfeit, smuggled and low-quality medicines has raised concern among health authorities in several countries due to the numerous risks they pose to the population. Electroanalytical techniques are a quick and low-cost alternative to performing the screening of illegal drugs at the place of seizure. In Chapter II, two methodologies for rapid determination and screening of tadalafil (TAD) are presented, using a 3D printed Batch Injection Analysis (BIA) with amperometry detection and multiple pulse amperometry, respectively. The results obtained were compared with the determination of TAD by spectrophotometry and the statistical data confirm that there was no difference between the values obtained by both techniques. In the second procedure, the screening of adulterated TAD samples was performed and, through the normalization (ratio) of peak currents, it was possible to distinguish between authentic and adulterated samples. In Chapter III, a 3D printed electrochemical cell compatible with several planar electrodes was proposed, consisting of a reservoir, rod and cap with pseudo-reference and auxiliary electrodes made with conductive filament extruded by a 3D pen. 3D-MSEC was applied in the screening of active ingredients in drugs with a history of counterfeiting/tampering, such as sildenafil citrate (SC), losartan, tadalafil and 17 α -ethinylestradiol. In this screening procedure, direct abrasion of the powder of each drug was performed on the graphite sheet electrode (GS), followed by mounting on the 3D-MSEC and recording the voltammetric profile in the presence of only 500 μ L of electrolyte. This set is promising for the rapid and practical screening of illicit drugs to identify the absence or presence of the active ingredient, as well as electroactive impurities. In Chapter IV, 3D-MSEC/GS was applied in the screening and determination of SC in Brazilian and Paraguayan drugs, and the results were compared with HPLC. This device was also applied in the screening of SC drugs seized by the Civil Police of Belo Horizonte-MG. The results showed the presence of SC alone in some samples and combined with other substances in others.

KEYWORDS: 3D printing; 3D additive manufacturing; Fusion and Deposition Modeling (FDM); 3D pen; Screening of counterfeit drugs.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O DOUTORADO

PUBLICAÇÕES EM REVISTAS CIENTÍFICAS

FERREIRA, P. A.; OLIVEIRA, F. M. de; MELO, E. I. de; CARVALHO, A. E. de; LUCCA, B. G.; FERREIRA, V. S.; SILVA, R. A. B. da. Multi sensor compatible 3D-printed electrochemical cell for voltammetric drug screening. *Analytica Chimica Acta*, v. 1169, p. 338568. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2021.338568>.

OLIVEIRA, F. M.; **FERREIRA, P. A.**; NEVES, C. G.; ROSA, T. M.; SANTOS, W. T. P.; MELO, E. I.; SILVA, R. A. B. da. Fast Screening and Determination of Tadalafil in Pharmaceutics by Batch Injection Analysis (BIA) with Amperometric Detection. *Electroanalysis*, v. 32, n. 10, p. 2253 - 2259. 2020. DOI:10.1002/elan.202060106

WONG, ADEMAR ; LIMA, D. G. ; **FERREIRA, P. A.** ; KHAN, S. ; SILVA, R. A. B.; FARIA, J. L. B. ; SOTOMAYOR, M. P. T. . Voltammetric sensing of glyphosate in different samples using carbon paste electrode modified with biochar and copper (II) hexadecafluoro-29H,31 phtalocyanine complex. *JOURNAL OF APPLIED ELECTROCHEMISTRY*, v. 51, p. 761-768, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10800-021-01539-z>

WONG, A.; **FERREIRA, P. A.**; SANTOS, A.M.; CINCOTTO, F. H.; SILVA, R. A.B.; SOTOMAYOR, M.D.P.T. A new electrochemical sensor based on eco-friendly chemistry for the simultaneous determination of toxic trace elements. *Microchemical Journal*, v. 158, p. 105292, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2020.10529>

FERREIRA, P. A.; BACKES, R.; MARTINS, C. A.; CARVALHO, C. T. de; SILVA, R. A. B. da. Biochar: a low-cost electrode modifier for electrocatalytic, sensitive and selective detection of similar organic compounds. *Electroanalysis*, v. 30, n. 10, p. 2233-2236, 2018. <http://dx.doi.org/10.1002/elan.201800430>.

FERREIRA, P. A.; PEREIRA, A. S. O ensino de polímeros por meio da estratégia dos três momentos pedagógicos. *Educação Química em Punto de Vista*, v. 2, n. 2, p. 87 – 97, 2018.

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

FERREIRA, P. A.; BACKES, R.; MARTINS, C. A.; TRINDADE, M. A. G.; CARVALHO, C. T. de; SILVA, R. A. B. da. Biochar: um modificador acessível para a detecção catalítica, sensível e seletiva de compostos orgânicos similares. Apresentação de pôster. 19º Encontro Nacional de Química Analítica (19 ° ENQA) e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica (7º CIAQA). 16 a 19 de setembro de 2018. Caldas Novas – GO.

FERREIRA, P. A.; BACKES, R.; MARTINS, C. A.; TRINDADE, M. A. G.; CARVALHO, C. T. de; SILVA, R. A. B. da. Eletrodo modificado com biochar para a determinação simultânea de isômeros fenólicos em água de torneira. Apresentação de pôster. 19º Encontro Nacional de Química Analítica (19 ° ENQA) e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica (7º CIAQA). 16 a 19 de setembro de 2018. Caldas Novas – GO.

FERREIRA, P. A.; ROSA, T. M.; SILVA, R. A. B. da.; FERREIRA, V. S.; Rápida determinação de etinilestradiol em medicamentos empregando sistema BIA com detecção amperométrica. Apresentação de pôster. 19º Encontro Nacional de Química Analítica (19 ° ENQA) e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica (7º CIAQA). 16 a 19 de setembro de 2018. Caldas Novas – GO.

FERREIRA, P. A.; OLIVEIRA, F. M. de; CARDOSO, R. M., MUNOZ, R. A. A., MELO, E. I.; SILVA, R. A. B. da. Determinação rápida de tadalafila empregando análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica. Apresentação de pôster. 19º Encontro Nacional de Química Analítica (19 ° ENQA) e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica (7º CIAQA). 16 a 19 de setembro de 2018. Caldas Novas – GO.

FERREIRA, P. A.; SILVA, R. A. B. da.; FERREIRA, V. S.; Triagem e determinação rápida e portátil de sildenafil usando eletrodo de folha de grafite e voltametria. XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (XXII SIBEE). 01 a 05 de setembro de 2019. Ribeirão Preto – SP.

FERREIRA, P. A.; OLIVEIRA, F. M. de; MELO, E. I. de; CARVALHO, A. E. de; LUCCA, B. G.; FERREIRA, V. S.; SILVA, R. A. B. da. Uma pequena célula

eletroquímica impressa em 3D compatível com vários sensores: um estudo para amostragem de drogas sólidas e triagens voltamétricas em uma única plataforma. XXIII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (XXIII SIBEE). 24 a 26 de novembro de 2021. Bonito - MS.

Oficina Eletroanalítica e suas aplicações: pesquisa e cotidiano. Semana de Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul Campus Campo Grande (SCT-2018). 2018. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (IFMS).

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

Participação na 12th PTASchool of Electrochemistry (12th PTASE). 04 a 08 de dezembro de 2017. Universidade de São Paulo (USP). São Paulo – SP.

Capitulo I: Introdução Geral

1.1 Panorama: medicamentos falsificados, contrabandeados ou de baixa qualidade

O uso de remédios contrabandeados, falsificados ou de má qualidade vem crescendo em escala mundial, o que vem causando transtornos no mundo há milênios. No ano 1500 a.C. foi relatado pela rainha egípcia Hatshepsut a existência de terapêuticos falsificados circulando pelo país. Outro relato antigo ocorreu na Europa, no século XVIII, quando houve a circulação de casca de quina falsa que era usado para tratar o paludismo¹. Todavia, somente em 1985 no Quênia foi realizada a conferência sobre o Uso Racional de Medicamentos onde foi discutido pela primeira vez sobre os riscos do consumo de medicamentos falsificados².

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), um medicamento falsificado produzido ilegalmente sem a garantia das boas práticas de higiene e segurança, possui informações falsas na embalagem a fim de ludibriar o consumidor^{1,3-6}. Por isso, o comércio, a venda, a produção e a distribuição desses medicamentos falsificados é considerado crime contra a saúde pública^{1,4}. Também existem os medicamentos de baixa qualidade que são produzidos por fabricante registrados, mas que estão fora dos padrões de qualidade devido falhas no processo de produção, embalagem ou transporte^{1,7}. Já os medicamentos contrabandeados, são produtos transportados a um país e não apresentam registro para serem comercializados legalmente⁴.

O consumo de medicamentos, suplementos e/ou anabolizantes falsificados, de baixa qualidade ou contrabandeados vem crescendo no Brasil e no mundo^{2,4}. Mas, a ingestão destes produtos é um grande risco à saúde, pois podem conter contaminantes, princípios ativos diferentes, princípio ativo em dosagem distinta da declarada na embalagem ou não possuir o princípio ativo^{1,2,4,5}.

As consequências do consumo desse tipo de remédio podem causar descrença da população no sistema de saúde, nos médicos, nos farmacêuticos e nos medicamentos^{1,3,7,8}. A periculosidade dos produtos fraudados também pode ocasionar outros danos como o prolongamento das doenças, falha no tratamento, danos à saúde por causa dos contaminantes e óbitos^{7,9,10}. Em 2017, estimou-se que 169 mil crianças poderiam morrer anualmente devido ao uso de antibióticos falsificados para pneumonia e que aproximadamente 116 mil pessoas morreriam de malária por causa de antimaláricos fraudados⁹. De acordo com a OMS, em países de média ou baixa renda, a cada 10 medicamentos vendidos um é falsificado ou de baixa qualidade^{8,9,11,12}.

Entre os anos de 2013 a 2017 as regiões com maiores notificações de medicamentos falsificados foram África Subsaariana (42%), Américas (21%), Europa (21%), Pacífico Ocidental (8%), Mediterrâneo Oriental (6%) e Sudeste Asiático (2%)^{1,9}. Neste mesmo período, as principais classes de medicamentos falsificados e de baixa qualidade notificadas a OMS foram os antipalúdicos (19,6%), antibióticos (16,9%), anestésicos e analgésicos (8,5%), produtos de bem-estar (8,5%), medicamentos para o cancro (6,8%), medicamentos para o coração (5,1%), medicamento psiquiátricos (3,1%), vacinas (2%), contraceptivos (2%) e medicamentos para diabetes (0,8%). Nessa classe de produtos para o bem-estar estão inclusos os remédios para impotência sexual, cosméticos, musculação e dieta ¹.

No Brasil, frequentemente a mídia promulga casos de medicamento de baixa qualidade, tal como o caso do anticoncepcional Microvlar[®] (Schering do Brasil) em 1998 que estava sendo comercializado sem princípio ativo (17 α -etinilestradiol + levonorgestrel), causando vários casos de gravidez não planejada. Nesse caso, os comprimidos foram fabricados na própria empresa apenas para testar um equipamento, porém as pilulas inócuas foram comercializadas¹³.

Em 2017, a eficácia dos três medicamentos genéricos mais vendidos no Brasil foi investigada, no qual em algumas marcas contendo o anti-hipertensivo losartana foi encontrada uma dosagem menor do que a declarada¹⁴. E recentemente em 2019, a ANVISA recolheu aproximadamente 200 lotes de medicamentos para hipertensão (valsartana, losartana e irbesartana) que estavam contaminados com nitrosamina (substância cancerígena)^{15,16}.

Outros casos envolvendo um fármaco de má qualidade ocorreram no Paraguai (2013) e no Paquistão (2012 - 2013). O medicamento em questão era indicado para tratar tosse e deveria conter dextrometorfano, entretanto com a piora do quadro clínico dos pacientes o caso foi notificado a OMS e verificou-se a presença de levometorfano. Ou seja, o fármaco foi produzido com o princípio ativo incorreto e como consequência 60 pessoas faleceram após a sua ingestão^{1,17,18}.

Em março de 2021, foram divulgados casos envolvendo as pílulas anticoncepcionais, Anulette[®] (17 α -etinilestradiol + levonorgestrel) e Minigest[®] (17 α -etinilestradiol + gestodeno), que são fabricadas pelo mesmo laboratório. Segundo análises, no Minigest[®] a quantidade de hormônio é menor do que a descrita no rótulo e

o Anulette® apresentou problemas na sequência de acondicionamento dos comprimidos na cartela. Essas falhas provocaram 170 gestações não planejadas no Chile¹⁹⁻²³.

No Brasil, os dados mostram que entre 2007 e 2010 os estados brasileiros com maior número de apreensões de medicamentos falsificados foram Paraná (50%), São Paulo (16,6%) e Santa Catarina (6,2%). Dentre as apreensões de medicamentos falsificados nesse período, 69% foram medicamentos para impotência sexual (Cialis® e Viagra®), 26% esteroides anabolizantes (Hemogenin®, Deca Durabolin® e Durateston®), 3,5% misoprostol (Cytotec®) e 0,7% outros medicamentos (Glivec®, Xenical®, Peb one® e Peb two®)^{3,4}. Análises químicas realizadas nestas amostras apreendidas revelaram uma grande variedade de substâncias presentes nesses medicamentos ou ausência de substância ativa, divergindo das informações declaradas nos rótulos⁴. Mais recentemente foram promulgados os principais medicamentos falsificados apreendidos no período de 1998-2015. As dez classes terapêuticas mais confiscadas foram vasodilatador (17,4%), analgésico (10,1%), anabolizante (9,4%), antibacteriano (8%), anti-inflamatório (6,3%), suplementos (5,6%), antiparasitário (4,2%), anorexígeno (2,4%), suplementação vitamínica (2,1%) e antifúngico (2,1%)².

Casos de falsificação ocorreram na Guiné-Bissau (2013) e na Libéria (2015) com o anticonvulsivo fenobarbital. Em ambas as situações os médicos observaram o aumento das crises convulsivas nos pacientes. Posteriormente, os testes químicos constataram a ausência do princípio ativo nos comprimidos¹. Entre 1997 e 2000 foram também descobertos casos de placebo no fármaco Androcur (Schering do Brasil) utilizado no tratamento do câncer de próstata. Essa falsificação culminou na morte de pacientes e na prisão dos integrantes da quadrilha^{5,13}.

Em 2014, na República Democrática do Congo, houve a circulação de Diazepam falsificado que resultou em 930 internações e 11 óbitos. Foi constatado que nesses medicamentos não havia Diazepam, mas foi detectada a presença de haloperidol que é utilizado para tratar esquizofrenia. Em 2015, no Níger e na Nigéria, houve a distribuição de vacinas falsificadas durante o surto da meningite C, esse crime resultou em quase 600 mortes¹.

Os fatores que contribuem para este cenário são o fácil acesso, o baixo custo, sites ilegais e a compra sem receita médica⁴. A falta de rigidez na regulamentação, falha na fiscalização e sanções penais fracas também auxiliam para o crescimento de vendas ilegais de medicamentos^{3,5,24}. Estima-se que estas redes criminosas alcançam lucros

maiores do que os obtidos no tráfico de drogas^{4,25} e de acordo com a Organização Internacional de Polícia Criminal (INTERPOL) este dinheiro também é usado para custear outras atividades clandestinas¹. Segundo o relatório divulgado em 2010 pelo Centro de Medicamentos no Interesse Público, essa renda gerada ilicitamente poderia alcançar US\$75 bilhões^{4,10} em 2020 e com aumento de 90% nos últimos 5 anos¹⁰.

Diante desse cenário preocupante de falsificações, falhas e contrabando de fármacos é necessário desenvolver metodologias para detecção e controle de qualidade dos medicamentos comercializados como, por exemplo, o 17 α -etinilestradiol (EE2), citrato de sildenafil (SC), tadalafila (TAD) e a losartana (LOS). Os dois princípios ativos SC e TAD são encontrados no Viagra[®] e no Cialis[®]; respectivamente, segundo Hurtado e Lasmar⁴ esses foram os campeões do contrabando no Brasil entre 2007 e 2010. Já o EE2 está presente em inúmeros anticoncepcionais²⁶, inclusive nas pílulas que já apresentaram falhas na composição hormonal como por exemplo, Microvlar[®], Anulette[®] e Minigest[®]. Os medicamentos para hipertensão contendo LOS já foram comercializados sem o princípio ativo ou com contaminantes, sendo necessário monitorar a qualidade dessa classe de fármacos. Com base nessas premissas, essas quatro moléculas foram selecionadas para desenvolver esse trabalho.

Todo este cenário evidencia a necessidade de metodologias para a análise da composição dos medicamentos para detectar os produtos falsificados ou irregulares. A OMS desenvolveu o passo-a-passo para analisar medicamentos suspeitos em vários aspectos que abrangem desde exames organolépticos até a análise química dos comprimidos. Estes protocolos serão descritos mais detalhadamente no próximo tópico.

1.2 Protocolo adotado pela Organização Mundial da Saúde para análise de medicamentos suspeitos

De acordo com as recomendações da OMS, o procedimento para análise de um produto suspeito pode seguir os seguintes passos: exame organoléptico, testes qualitativo de triagem e métodos analíticos quantitativos^{2,24,25}. O exame organoléptico consiste na avaliação preliminar de um medicamento comparando-se distintas características entre os produtos verdadeiro e suspeito. As características a serem observadas devem ser número de registro na Anvisa, número do lote presente na embalagem e no frasco, tinta reativa, lacre de segurança, nome e endereço do fabricante, erros gramaticais na embalagem, instruções mal escritas, odor, cor, formato e tamanho

da pílula, textura, rachaduras, manchas superficiais, data de validade, entre outros^{2,24,25,27,28}.

Os falsificadores podem cometer erros óbvios que podem ser identificados pelo consumidor ou erros discretos que são detectados somente por especialistas. Um exemplo ocorreu na Hungria, onde foi apreendido Viagra® falso que possuía cor rosa ao invés da tradicional cor azul, posteriormente análises químicas confirmaram a ausência do princípio ativo e a presença de anfetamina^{10,29}. Caso a verificação visual seja inconclusiva, é necessária uma análise química do princípio ativo presente na formulação, podendo ser realizada de modo qualitativo (triagem) ou quantitativo.

Se o exame organoléptico não fornecer evidências conclusivas, o fármaco suspeito pode ser submetido a um método de diagnóstico simples como, por exemplo, colorimetria, cromatografia em camada delgada (CCD), dissolução e desintegração^{2,24,29}. Obrigatoriamente um teste qualitativo deve fornecer a identificação do princípio ativo, todavia o resultado mostra apenas o indício da presença do fármaco. Além disso, este diagnóstico pode ou não fornecer evidência de contaminantes na formulação²⁴. É importante salientar que o teste diagnóstico não exclui a realização de testes oficiais encontrados em farmacopeias, pois uma avaliação completa do medicamento exige um conjunto de análises qualitativas e quantitativas^{24,29}. Além disso, o diagnóstico tardio colabora para o atraso na apreensão desses medicamentos falsificados/adulterados e conseqüentemente contribui para o maior número de vítimas⁷.

A colorimetria é um teste simples, rápido, barato e pode ser feito no local da apreensão fornecendo um resultado positivo para a presença do analito por meio de uma reação que promove uma rápida mudança de cor^{2,24,29,30}. Com esse método é possível verificar a presença ou a ausência do princípio ativo e também obter informações semi-quantitativas como, por exemplo, se a mudança de cor for radical ou mais profunda a quantidade do ingrediente ativo pode estar elevada^{7,29,31}.

É possível obter medições quantitativas por meio da colorimetria usando um fotômetro portátil que mede a concentração do fármaco em função da absorção da cor^{7,24,30,31}. Um exemplo de teste colorimétrico realizado com antimaláricos é o uso do corante Fast Red TR que torna-se amarelo na presença do princípio ativo²⁹⁻³¹. Outro exemplo muito conhecido é a triagem de cocaína usando o teste de Scott, que utiliza tiocianato de cobalto em meio ácido que em contato com a droga torna-se azul³². Apesar da técnica apresentar simplicidade, baixo custo e fácil manuseio ela possui limitações

como, por exemplo, o falso positivo na presença de interferentes e também inutilizar a amostra^{29,32}.

Outros testes qualitativos que podem ser utilizados na análise de fármacos suspeitos são os testes de desintegração e dissolução do comprimido^{2,29,33}. Esse tipo de investigação auxilia na identificação de erros comuns na formulação de medicamentos adulterados/falsificados^{29,33}. Os testes de desintegração são adequados para análise em campo, mas para realizar os testes de dissolução é necessário utilizar instrumentação²⁹. Os testes de desintegração avaliam a velocidade de desintegração de uma formulação sólida em solução. Os testes de dissolução fornecem informações sobre a biodisponibilidade do fármaco^{29,34,35}.

Quando o medicamento apresenta baixa dissolução isso sugere que a dose do princípio ativo pode não estar disponível para o organismo do paciente^{29,35}. Além disso, este resultado indica se a formulação está fora dos padrões de qualidade, se a composição do excipiente está correta e se as condições de armazenagem estão adequadas. Esses testes de desintegração e dissolução são eficazes até mesmo para discernir se o medicamento adulterado/falsificado possui a quantidade correta do ingrediente ativo^{29,34,35}.

Esses testes são comumente utilizados na indústria para controle de qualidade, pois permitem observar a reprodutibilidade entre lotes de medicamento, uniformidade do produto, falhas na fabricação, comportamento da liberação do princípio ativo, detecta diferenças sutis na fabricação, entre outros. Estas informações são de extrema relevância na indústria, pois influenciam diretamente no mecanismo de ação do fármaco no corpo humano^{34,35}.

Outra análise que pode ser empregada na triagem de fármacos suspeitos é a cromatografia em camada delgada (CCD)^{2,24,29,36}. Essa técnica utiliza uma fase estacionária composta por uma placa revestida com uma camada fina de adsorvente sólido (alumina ou sílica) e uma fase móvel que consiste em um solvente adequado para a análise. Esta placa é inserida no recipiente onde foi adicionado o solvente e a fase móvel vai eluir pela camada adsorvente promovendo a separação dos componentes da amostra de acordo com a polaridade e as interações químicas de cada um com a fase móvel e a estacionária^{2,10,37,38}. Os testes CCD são os mais utilizados na triagem de fármacos falsificados/adulterados¹⁰, visto que permitem a identificação da composição do medicamento, fornecem informação semiquantitativa do princípio ativo e a detecção de impurezas no medicamento^{24,29}.

Quando o solvente elui pela fase estacionária arrastando consigo a amostra, ocorre a separação dos componentes do medicamento^{2,7,10,29}. Todas as informações obtidas nessa análise cromatográfica como a cor, intensidade e a distância percorrida pela mistura devem ser semelhantes ao padrão de referência^{29,36}. As impurezas presentes na formulação do medicamento também podem ser detectadas pela CCD e também há menos risco de interferência dos excipientes²⁴ como ocorre na colorimetria.

Já a intensidade da cor da mancha está relacionada com a quantidade do princípio ativo presente na amostra³⁹ e pode ser discernida visualmente quando comparada com o padrão de referência^{29,31,36}. Por isso, a CCD é considerada semi-quantitativa³⁹ mesmo se os falsificadores adicionarem uma pequena quantidade do ingrediente ativo, a CCD fornece essa informação de baixa dosagem^{24,36}. Vários trabalhos já foram publicados utilizando essa técnica cromatográfica na triagem de medicamentos falsificados, no trabalho de Sherma e Rabel é apresentada uma revisão sobre os artigos divulgados empregando a CCD⁶.

A CCD é um método de triagem presente no kit de análise desenvolvido pelo German Pharma Health Fund (GPHF)^{6,10} conhecido como GPHF-Minilab, esse projeto é financiado pela Merck Germany⁴⁰. O manual do Minilab possui todas as etapas que devem ser seguidas na análise do fármaco falsificado/adulterado sendo: o exame visual da embalagem e da pílula para detectar erros óbvios, uniformidade da massa, teste de desintegração e por último o teste CCD para verificar o conteúdo do medicamento e a estimativa da dosagem^{6,7,12}. Dados recentes mostram que esse Minilab já é utilizado por quase 100 países dos quais Mianmar, Tanzânia e Uganda já o elegeram como kit oficial para monitorar a qualidade dos antipalúdicos, no total existem aproximadamente 900 Minilabs pelo mundo¹².

O Minilab contém um manual para a triagem de 102 medicamentos¹² sendo antissépticos, antibióticos, vermífugos, antituberculosos, antipalúdicos, antibacterianos, anti-inflamatórios, antirretrovirais, entre outros^{6,10}. Este kit de análise é portátil, de baixo custo, permite uma rápida triagem, não depende de energia elétrica (possui bateria), adequado para análise em campo e não necessita de muito treinamento, todas essas características tornam viável o uso desse kit em locais remotos e nos países em desenvolvimento^{6,10}. Além disso, o kit possui todos os solventes (não tóxicos) necessários para realizar a inspeção do fármaco^{6,12}, padrões de referência, vidrarias, lâmpadas UV, placas descartáveis para CCD, câmara de revelação, balança de bolso, régua, lápis e placa de aquecimento. A quantidade desses itens é o suficiente para

realizar 1000 análises por € 3 cada uma e o manual foi escrito em três idiomas (inglês, francês e espanhol)¹².

Na literatura encontra-se aproximadamente quarenta dispositivos que foram desenvolvidos para triagem em campo de medicamentos falsificados/adulterados^{7,8}. Esses dispositivos apresentam variação quanto ao custo, tipo de análise, resultado, e experiência do usuário. Todos esses métodos de triagem podem ser classificados em quatro categorias⁷:

- (1) **Triagem de formulação:** dispositivos que analisam tanto o princípio ativo quanto os excipientes presente na forma farmacêutica. São baseados em dados espectrais e necessitam de uma biblioteca de referência, além disso alguns fornecem informações quantitativas do princípio ativo. Exemplos: TruScan RM (Thermo Scientific), SCiO (Consumer Physics), TruDefender FT (Thermo Scientific), Metrohm Instant Raman Analyzer (MIRA, Metrohm), entre outros.
- (2) **Deteção do princípio ativo:** a maioria desses dispositivos fornecem informações semi-quantitativas enquanto outros só identificam o princípio ativo. Todos esses métodos destroem a amostra após a análise e muitos exigem o pré-tratamento do medicamento. Exemplos: GPHF-Minilab, Dispositivo Analítico de Papel (PAD), IONSCAN-LS (Smiths Detection), NIR (D-NIRS), etc.
- (3) **Propriedades físicas:** esse tipo de dispositivo discerne entre o medicamento autêntico e o adulterado/falsificado com base na aparência visual do comprimido e da embalagem. É importante enfatizar que esses testes não verificam a presença ou a ausência do princípio ativo. Exemplos: Dispositivo de Deteção de Falsificação CD3+, refratômetro digital AR200 (Leica Microsystems), Indicador de Medicamentos Falsificados (CoDI), SOC-410 (Surface Optics Corporation), etc.
- (4) **Contaminação Microbiana:** é citado somente um dispositivo desenvolvido com o propósito de detectar essa contaminação. Esse teste é conhecido como Speedy Breedy (Bactest), um respirômetro portátil que avalia o contágio microbiano ou a esterilidade em meio líquido.

Os testes organolépticos e qualitativos são recomendados pela OMS^{1,24}, mas para se obter informações mais detalhadas sobre a composição do medicamento é necessário submeter o fármaco a análises cromatográficas e/ou espectroscópicas^{7,10,31}.

Essas técnicas podem ser mais sofisticadas, dispendiosas, necessitam de usuário treinado para manusear o equipamento e um laboratório^{1,7,8,29}. Entretanto, algumas regiões não têm acesso e nem condições para adquirir esses equipamentos para monitorar a qualidade dos medicamentos. Essa situação contribui negativamente, pois esses locais são os principais alvos de medicamentos falsificados^{1,7,10,29}.

A cromatografia é considerada uma técnica de referência para a análise de fármacos sendo classificada como uma técnica ouro^{8,31} e ainda é recomendada pela Farmacopeia Brasileira⁴¹. Existem dois tipos de cromatografia empregadas na análise de fármacos que são conhecidas como líquida (HPLC) e gasosa (CG), a diferença básica entre elas é o estado físico da fase móvel^{39,42}. O HPLC é um método de separação onde os componentes de uma mistura são separados ao passarem pela coluna que retém os compostos de acordo com as interações de cada molécula com a fase estacionária e com a fase móvel^{10,42-44}. À medida que os compostos são liberados da coluna eles são identificados por um detector⁴⁵ como, por exemplo, de índice de refração^{7,42}, fluorescência^{7,42}, eletroquímico^{31,42}, ultravioleta^{7,31}, espectrômetro de massa (MS)^{29,31}, entre outros. Por meio dessa técnica é possível quantificar os componentes do medicamento com base na altura ou área do pico⁷.

Já na CG a fase móvel é um gás inerte e os analitos são separados de acordo com a interação com a fase estacionária. A ordem de eluição dos componentes está relacionada com a volatilidade e a interação com a coluna capilar, ou seja, os constituintes mais voláteis eluem primeiro seguido dos analitos que possuem maior tempo de retenção^{39,42}. Os detectores utilizados na CG podem ser de ionização em chama, de condutividade térmica, captura de elétrons³⁹, de espectrometria de massa⁴², entre outros.

A cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (HPLC-MS) é uma técnica que alia a separação de moléculas por HPLC e a identificação da substância por MS^{10,42}. É uma ferramenta muito utilizada na análise de medicamentos falsificados e de baixa qualidade^{31,46}, além disso é considerada uma análise de rotina no laboratório^{45,46}. Essa técnica combina a cromatografia líquida com a alta sensibilidade e seletividade da espectrometria de massa^{10,31}. A HPLC-MS é capaz de separar misturas complexas^{45,46} e fornecer informações estruturais das moléculas presentes na formulação^{10,31}, visto que a MS separa as moléculas segundo a sua razão massa/carga e subsequentemente permite a sua identificação⁴⁶. Essa técnica permite a análise qualitativa e quantitativa de formulações conhecidas e também a elucidação de amostras desconhecidas^{10,46}.

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-MS) é a técnica mais empregada para caracterizar e detectar medicamentos falsificados^{10,46} ou de baixa qualidade²⁹. Além disso, a CG é mais eficiente do que a HPLC, já que as colunas utilizadas na CG são mais extensas e proporcionam maior número de pratos teóricos^{39,42}. Em análise quantitativa a CG-MS permite encontrar pequenas quantidades do analito na ordem de picogramas³⁹. Outro ponto positivo da GC-MS é a sua capacidade de traçar perfil das impurezas presentes nos fármacos e por meio destes resultados é possível descobrir se diferentes amostras falsificadas provêm de uma mesma fonte. Essa técnica também pode diferenciar lotes de fármacos genuínos e discernir entre produtos falsificados e de baixa qualidade²⁹.

Todavia, existem alguns inconvenientes na CG-MS como, por exemplo, o analito deve ser volátil e não pode se degradar antes ou na temperatura de análise^{29,46}. Se o componente não for volátil ou termolábil é necessário submetê-lo a derivatização^{39,46}. Como a natureza dos constituintes do fármaco geralmente são termicamente instáveis e se degradam na faixa de 180 a 200°C é essencial a sua derivatização^{31,46}. Esse procedimento de preparo de amostra prolonga o tempo da análise, aumenta a probabilidade de erros, torna o procedimento complicado e aumenta o custo da análise^{31,39,46}. Apesar de seus méritos a CG-MS apresenta inconveniências em relação a simplicidade e tempo de análise⁴⁶.

As técnicas espectroscópicas fornecem informações a respeito da estrutura e da composição por meio da interação da matéria com a radiação eletromagnética⁴⁶, pois cada molécula possui interação exclusiva com a radiação⁷. As técnicas mais conhecidas são Raman, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de infravermelho próximo (NIR), ressonância magnética nuclear (RMN) e espectroscopia na região UV-VIS^{7,10,31}. A MS também é empregada em análises de medicamentos suspeitos, mas difere das outras técnicas espectroscópicas, pois é uma técnica fundamentada na formação e detecção dos íons provenientes das espécies injetadas³³.

Essas técnicas espectroscópicas permitem ao analista distinguir medicamentos falsificados ou de baixa qualidade por meio de comparações entre o espectro da amostra com espectro de referência presente numa biblioteca de dados^{29,33}. A OMS disponibiliza digitalmente a Farmacopeia Internacional, esse guia possui o espectro infravermelho dos medicamentos mais usuais²⁹. Vale ressaltar que cada amostra fornece uma impressão digital espectral que auxilia na sua identificação, pois vários princípios

ativos, alguns excipientes orgânicos e os contaminantes possuem picos espectrais bem característicos^{7,29,45}.

As técnicas espectroscópicas não destroem a amostra, fornecem dados qualitativos, possuem alta velocidade e ainda podem ser quantitativas como UV-Vis e RMN^{31,33}. A FTIR é uma técnica que possibilita identificar os grupos funcionais das moléculas presentes no medicamento por meio das bandas de absorção, essa técnica mede as vibrações moleculares na região de 400 a 4000 cm^{-1} ^{10,31,45}. Essa técnica apresenta alta especificidade devido as bandas de absorção finas e intensas³³. Já a NIR varia de 12500 a 4000 cm^{-1} ³³, por isso suas bandas de absorção são mais largas, mais fracas, com baixa resolução e baixa especificidade^{31,33}, conseqüentemente as diferenças entre os espectros dos medicamentos são muito discretas^{10,31}. Para contornar essa limitação os espectros NIR são submetidos a quimiometria para discriminar as amostras suspeitas^{31,33}.

Ao contrário das espectroscopias FTIR e NIR que envolvem a absorção, a técnica espectroscópica Raman detecta o espalhamento da luz irradiada na amostra por um laser³¹. Essa energia interage com as vibrações liberadas pelos constituintes da amostra, esse processo altera a energia dos fótons e conseqüentemente os modos vibracionais das moléculas podem ser detectados^{10,33,45}. O espectro Raman fornece bandas de absorção finas, essa característica confere alta especificidade a técnica³³.

A espectroscopia RMN é uma técnica interessante para analisar a qualidade de amostras suspeitas, visto que elucida as estruturas moleculares e a sua composição^{10,33,47}. Na RMN o medicamento é submetido a um campo magnético externo onde uma onda eletromagnética causa excitação no núcleo do átomo. Então, o núcleo com spin diferente de zero (^1H e ^{13}C) irá produzir seu próprio campo magnético e produzirá o sinal de ressonância^{10,29}. Essa técnica é quantitativa por natureza, visto que a área do pico é proporcional ao número de núcleos^{29,31,33}. Entretanto, a RMN é dispendiosa, requer uso de solventes, temperatura controlada, energia estável e de um analista com qualificação^{10,29}. Algumas dessas desvantagens pode ser superadas usando o RMN de bancada que pode ter um preço menor e é mais compacto, mas é menos sensível¹⁰.

As técnicas espectroscópicas FTIR, NIR e Raman possuem várias opções de equivalentes portáteis e que são adequados para a análise em campo^{10,31,47} tais como Exoscan (A2 Technologies[®]), MicroPhazir (Thermo Scientific[®]) e Truscan (Thermo Scientific[®]), respectivamente^{7,31}. Esses dispositivos portáteis são ferramentas

promissoras que vem ganhando destaque no combate aos medicamentos falsificados e de baixa qualidade em países de baixa e média renda⁴⁷. Os dispositivos miniaturizados apresentam resultados satisfatórios na análise em campo, pois discriminam e identificam medicamentos falsificados e de baixa qualidade quanto a quantidade do princípio ativo, a presença de contaminantes e em relação aos excipientes⁷.

Vários testes podem ser empregados nos procedimentos organolépticos, de triagem e confirmatórios, não obstante foram apresentados os principais métodos relatados na literatura, como alternativa novos métodos, com menor custo, estão sendo utilizados como, por exemplo, a impressão 3D.

1.3 Métodos eletroanalíticos

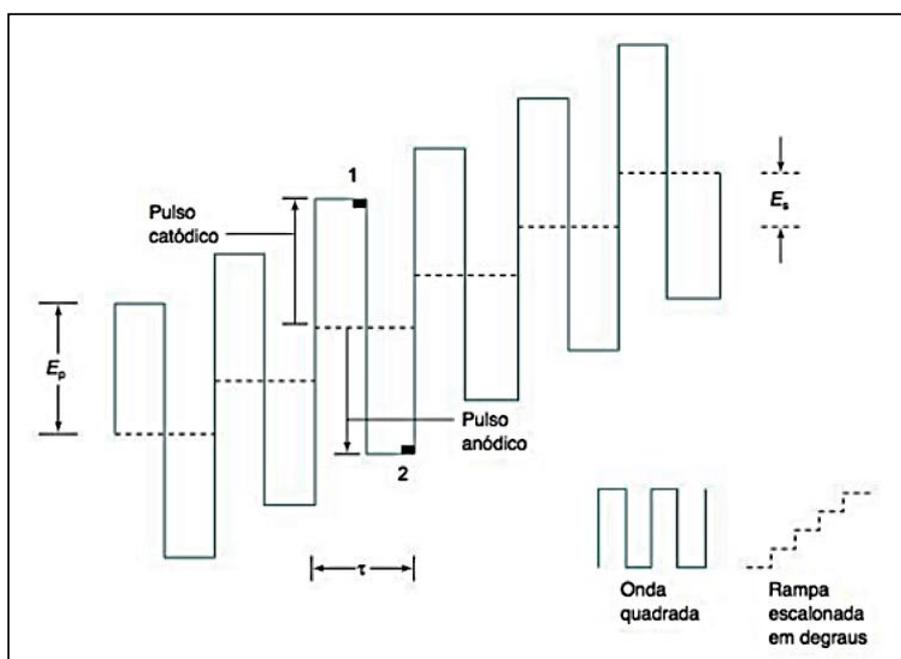
Os métodos eletroanalíticos fazem parte da química analítica e por meio destes obtêm-se informações qualitativas e quantitativas sobre a espécie eletroativa de interesse^{48,49}. Estes métodos fundamentam-se na relação direta entre a quantidade da substância com a respectiva propriedade elétrica como, por exemplo, condutividade elétrica, potencial, corrente ou carga⁴⁹.

Existem vários tipos de técnicas eletroanalíticas tais como, voltametria, potenciometria, amperometria, condutometria, etc⁴². Dentre estas, as técnicas voltamétricas são muito utilizadas em diversos tipos de análises⁵⁰. A voltametria é realizada usando uma célula com três eletrodos, onde cada eletrodo exerce a sua função⁴⁸. Em suma, mede-se a corrente entre o eletrodo auxiliar e o eletrodo de trabalho enquanto que aplica-se a diferença de potencial entre o eletrodo de referência e o trabalho⁴². A reação de oxirredução do analito ocorre na superfície do eletrodo de trabalho e a corrente faradaica gerada é proporcional a concentração dessa espécie⁵⁰. As informações sobre o potencial e a corrente são registradas simultaneamente e exibidas em um voltamograma⁴⁸.

A técnicas supracitadas diferem quanto ao tipo de sinal elétrico empregado na análise da espécie eletroativa e também na aplicação do potencial em função do tempo^{49,50}. Nesse sentido, as técnicas voltamétricas pulsadas (como a voltametria de pulso diferencial e a voltametria de onda quadrada) possuem maior sensibilidade, visto que o potencial aplicado não é uma função linear do tempo. Então, as técnicas pulsadas promovem a melhor discriminação entre as correntes capacitiva e a faradaica resultando na menor contribuição da capacitiva no sinal eletroquímico⁴⁹⁻⁵¹.

A voltametria de onda quadrada (VOQ) é a técnica que alia rapidez e alta sensibilidade, além de fornecer baixos limites de detecção que são comparáveis aos obtidos por cromatografia e a espectroscopia^{49,51}. A programação da voltametria de onda quadrada está ilustrada na Figura 1, onde uma onda quadrada é sobreposta a uma rampa escalonada. A corrente é registrada no fim do pulso (incremento de potencial) catódico e do anódico quando a corrente capacitiva é negligenciável. Na VOQ, como as componentes direta e reversa são realizadas na mesma varredura, então o sinal registrado corresponde a corrente resultante. Por isso, que a corrente de pico obtida pela VOQ é mais intensa do que nas outras técnicas voltamétricas^{48,49,51}.

Figura 1 – Modo de perturbação do eletrodo de trabalho na voltametria de onda quadrada.



Fonte: Adaptado de Harris, 2016⁴².

Os métodos voltamétricos, principalmente as técnicas pulsadas, oferecem muitas vantagens como a seletividade, especificidade, sensibilidade e baixo limite de detecção⁵⁰. Vale ressaltar, que o método adotado pelos compêndios nacionais e internacionais⁵² é a cromatografia que é uma técnica robusta e confiável, contudo apresenta as suas desvantagens como o preparo de amostra, tempo de análise, alto custo e o elevado consumo de reagentes⁵³. Já as técnicas eletroanalíticas possuem baixo custo instrumental, baixa geração de resíduos, fornece resultados mais rápidos e na maioria das vezes não necessita de preparo de amostra^{49,53}. Então, esses métodos tem potencial

para serem empregados na análise qualitativa e quantitativa de medicamentos falsificados, pois identificam a presença ou a ausência do fármaco, detectam interferentes e permitem a quantificação do princípio ativo.

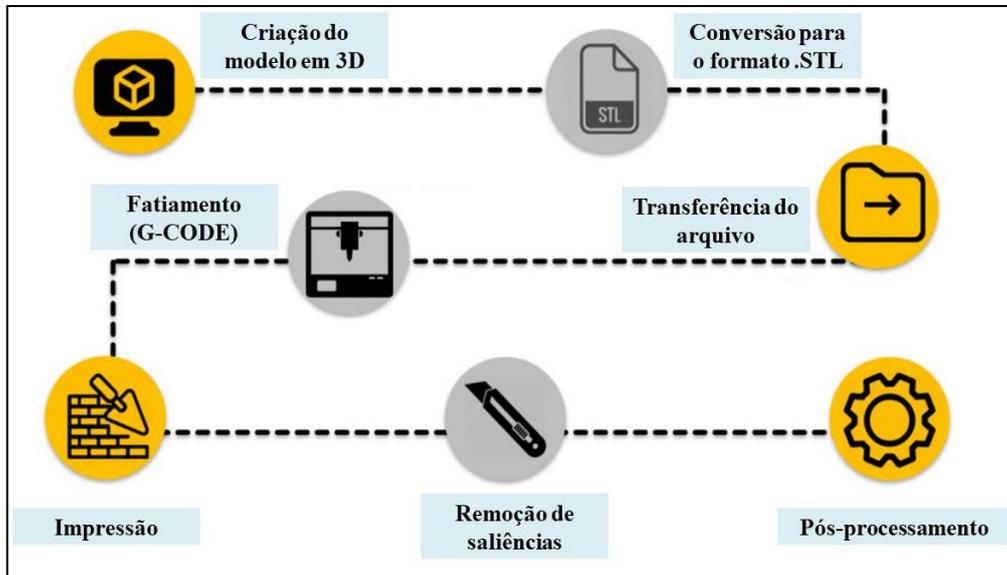
Além disso, as técnicas voltamétricas podem ser utilizadas em conjunto com outras tecnologias como, por exemplo, a impressão 3D⁵⁴. Recentemente, diversos pesquisadores tem utilizado as impressoras 3D para produzir células e eletrodos como, por exemplo, na construção de dispositivos eletroquímicos portáteis⁵⁵⁻⁶¹. A utilização desta tecnologia na voltametria tem contribuído para reduzir ainda mais os custos dos aparatos empregados na eletroanalítica^{60,62}.

1.4 Impressão tridimensional: breve histórico e tipos de tecnologias de impressão 3D

A impressão 3D, manufatura aditiva ou prototipagem rápida é uma tecnologia inovadora e que é considerada a nova revolução industrial⁶³⁻⁶⁵, pois permite projetar e fabricar materiais personalizados com rapidez, menor custo e sem desperdício^{63,66,67}. Além disso, a manufatura aditiva possui outras vantagens tais como precisão, versatilidade, reprodutibilidade, durabilidade, fabricação em uma única etapa e customização^{68,69}. A impressão 3D permite a construção dos objetos 3D por meio de adições sucessivas (camada por camada) até se obter o resultado final⁷⁰⁻⁷², todo esse processo é controlado digitalmente⁷³.

Para imprimir uma estrutura física por meio da manufatura aditiva é necessário criar o modelo digital por meio de um software de desenho assistido por computador (CAD), scanner 3D ou fotogrametria^{67,68,73-75}. Após o desenvolvimento do desenho tridimensional é preciso convertê-lo no formato de arquivo estereolitográfico (arquivo .STL)^{68,74,76}, onde as informações do desenho serão transformadas em triângulos que descrevem a geometria superficial do objeto^{71,73,74}. Essa etapa é imprescindível, visto que o formato .STL é universalmente compatível com o software de qualquer impressora 3D^{54,73,77}. Em seguida, o software da impressora vai realizar o fatiamento do modelo desejado, esse processo consiste em fatiar o objeto em sucessivas camadas gerando um arquivo G-CODE. A impressora 3D segue as coordenadas presentes no G-CODE para imprimir a peça tridimensional camada por camada e esse processo se repete até o término da construção do objeto^{54,68,73,75}. Todo esse processo está resumido na Figura 2 abaixo.

Figura 2 – Etapas envolvidas desde a elaboração até a impressão de uma peça tridimensional.



Fonte: Adaptado de Agrawaal *et. al.* 2021⁷¹.

Como o software de fatiamento define apenas a superfície externa da peça, o preenchimento das camadas é determinado pelo usuário⁷⁴. A forma de deposição de cada camada no momento da impressão, o tempo e a resolução são determinados pelo tipo de tecnologia presente na impressora 3D^{71,73,75,76}. Dependendo da estrutura 3D almejada é necessário incluir uma parte sacrificial na construção do modelo para atuar como suporte, mas posteriormente esse suporte é eliminado para se obter o resultado final⁷⁴. Outros tipos de pós-processamento também podem ser incluídos como, por exemplo, pintura, polimento, colagem, acabamento com produtos químicos, etc^{71,77}.

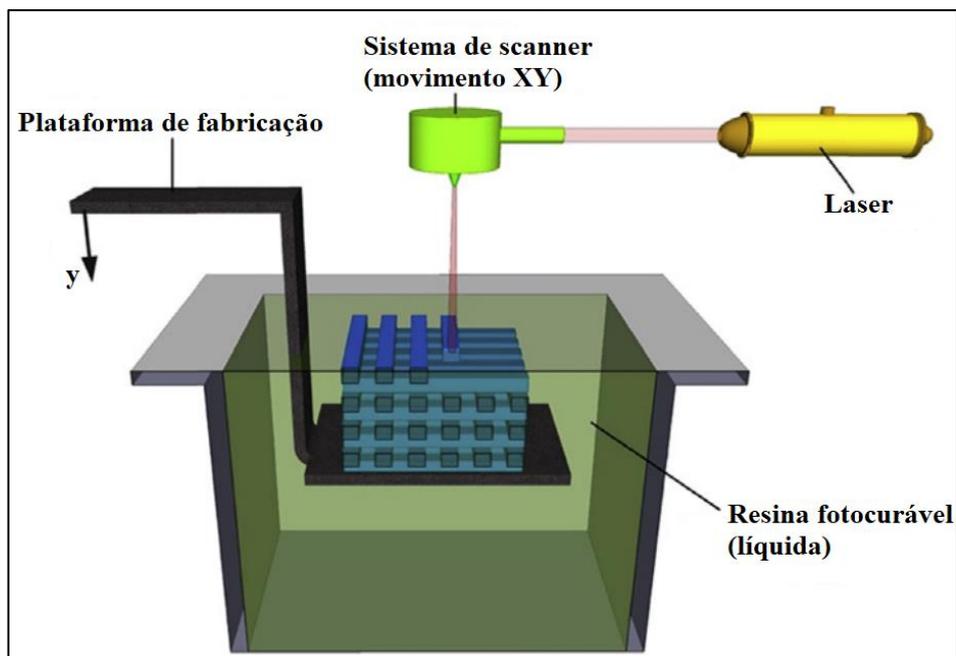
Existe uma variedade de processos e tecnologia de impressão tridimensional que surgiram nas últimas décadas, cada uma tem um método diferente para depositar as camadas do material⁷³⁻⁷⁶. Esses métodos podem ser divididos em quatro categorias principais com base em suas semelhanças: (1) extrusão: Modelagem por fusão e deposição (FDM) e Robocasting (DIW); (2) laminação: Manufatura de objetos laminados (LOM); (3) à base de pó: Sinterização seletiva a laser (SLS), Fusão seletiva a laser (SLM), Fusão por feixe de elétrons (EBM), Jato de aglutinante e Sinterização de inibição seletiva (SIS) e (4) fotopolimerização: Estereolitografia (SLA), Jato de tinta, Produção contínua em interface líquida (CLIP) e Polimerização por dois fótons (2PP)^{54,73}. Essas técnicas ainda podem ser subdivididas em dois grupos: (1) métodos que causam o amolecimento ou a fusão do material tais como SLS, SLM e

FDM; (2) métodos que fazem a cura de materiais líquidos como, por exemplo, SLA e LOM^{75,78}.

O primeiro relato de uma impressão tridimensional surgiu em 1977 e foi descrito na patente do pesquisador W. K. Swainson⁷¹. Em 1981 Hideo Kodama, do Instituto de Pesquisa Municipal de Nagoya, também desenvolveu um método para fabricar objetos 3D usando o método que seria nomeado como Estereolitografia (SLA). Nesse método Kodama utilizou luz ultravioleta para solidificar o polímero fotoendurecível camada por camada até o resultado almejado^{54,71,73,78-80}. Somente em 1984, Charles Hull (ou Chuck Hull), criou o primeiro equipamento 3D e em 1986 conseguiu a patente para o método da SLA^{73,76,77,79,80}. Além disso, Hull fundou a empresa 3D Systems^{73,79}, em 1987 comercializou a primeira impressora 3D⁸¹ e também criou formato .STL para vincular o modelo digital com a impressora 3D^{73,75}.

Os materiais utilizados na SLA são resinas acrílicas ou epóxi^{67,77,82}. O esquema de funcionamento da SLA está ilustrado na Figura 3. Existem várias configurações de impressoras SLA, entretanto na maioria das vezes consiste em uma cuba preenchida com resina fotocurável, uma plataforma móvel e uma fonte de luz (UV, LED, laser Hg-Cd, etc.)⁷¹. A fotopolimerização ocorre quando uma fonte de luz, com energia suficiente para solidificar a resina, interage com a superfície do fotopolímero realizando a cura. Após a camada ser fotopolimerizada, a plataforma de fabricação desce a profundidade de uma camada e o processo se repete até a formação da estrutura tridimensional^{67,71,74}.

Figura 3 – Diagrama ilustrando os componentes e o funcionamento da Estereolitografia (SLA).



Fonte: Adaptado de Awad *et al.* 2018.⁷⁴

Após o processo de impressão SLA, geralmente, os objetos necessitam de um procedimento de pós-processamento para limpar a resina não curada de sua superfície^{67,71,74}. A SLA é uma técnica que fabrica peças 3D com alta resolução e complexidade mesmo em escalas pequenas^{67,82}. Essa resolução é influenciada pelas propriedades da fonte de luz e pelas características da resina⁷⁴. Outra vantagem da SLA é que ela não possui bico extrusor e conseqüentemente não apresenta problemas de entupimento⁶⁷. Todavia, as dimensões do objeto é limitado pelo volume da cuba⁷⁴, as impressoras SLA são de alto custo⁶⁷ e as peças produzidas por esta técnica não são resistentes devido os fotorpolímeros serem suscetíveis a degradação⁷⁰.

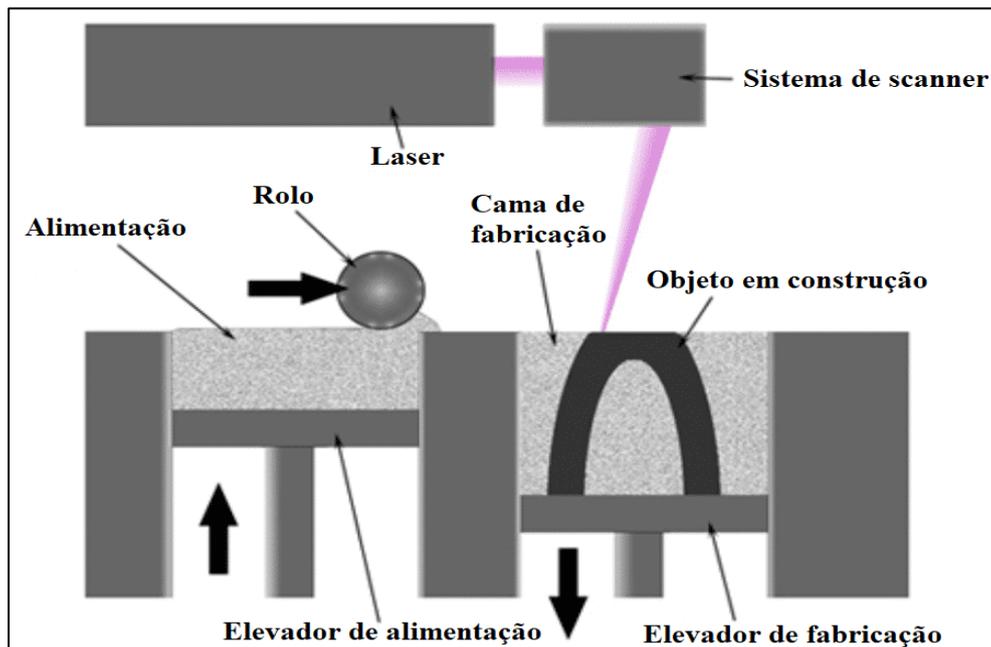
Na década de 80, Carl Deckard acadêmico da Universidade do Texas e o Dr. Joe Beaman desenvolveram e patentearam um novo método de impressão 3D nomeado como Sinterização Seletiva a Laser (SLS)^{75,77,79}. A SLS é uma técnica que usa um laser de alta energia para amolecer, fundir e solidificar um pó para formar uma estrutura 3D^{71,73,75,78,79}. Esse feixe de laser funde o material obedecendo o modelo programado^{71,75}.

O funcionamento de uma impressora 3D SLS está ilustrado na Figura 4. O pó que será sinterizado é espalhado uniformemente na cama de fabricação pelo rolo. Em seguida o feixe de laser funde as partículas do pó de acordo com as informações do

projeto 3D, ou seja, atinge pontos específicos. Para padronizar a energia do feixe de laser são empregados lentes e espelhos para este propósito. Quando a camada é finalizada a cama de construção se abaixa na altura da espessura de uma camada e o leito de alimentação sobe para fornecer pó para a próxima camada. Essa nova camada de pó é uniformizada pelo rolo antes do laser sinterizar a próxima camada da estrutura tridimensional^{71,74,75}.

Como o feixe de laser sinteriza apenas pontos específicos do pó para formar o objeto 3D, o pó não sinterizado pode atuar como material de suporte^{71,74}. Então, na impressão SLS não é necessário utilizar suportes para produzir as peças, essa característica permite a construção de peças com geometrias complexas^{68,74}. Esse pó é removido após o término da impressão usando uma escova de cerdas macias^{67,74} e pode ser reutilizado após o estágio de recuperação evitando o desperdício de material^{71,74}. Entretanto, o alto custo de uma impressora SLS é uma desvantagem^{71,73,74}.

Figura 4 - Esquema de funcionamento de uma impressora de Sinterização Seletiva a Laser (SLS).



Fonte: Adaptado de Gokhare *et al.* 2017.⁷⁵

As impressoras 3D SLS são comumente conhecidas por produzirem peças com superfície áspera/rugosa⁷¹, então costuma-se empregar um tratamento pós-impressão como, por exemplo, polimento mecânico ou um tratamento químico⁷⁴. A resolução e a rugosidade do objeto 3D fabricado com SLS depende do tamanho da partícula, quanto maior a partícula menor a resolução e maior a rugosidade^{67,71,74}. Outros fatores também

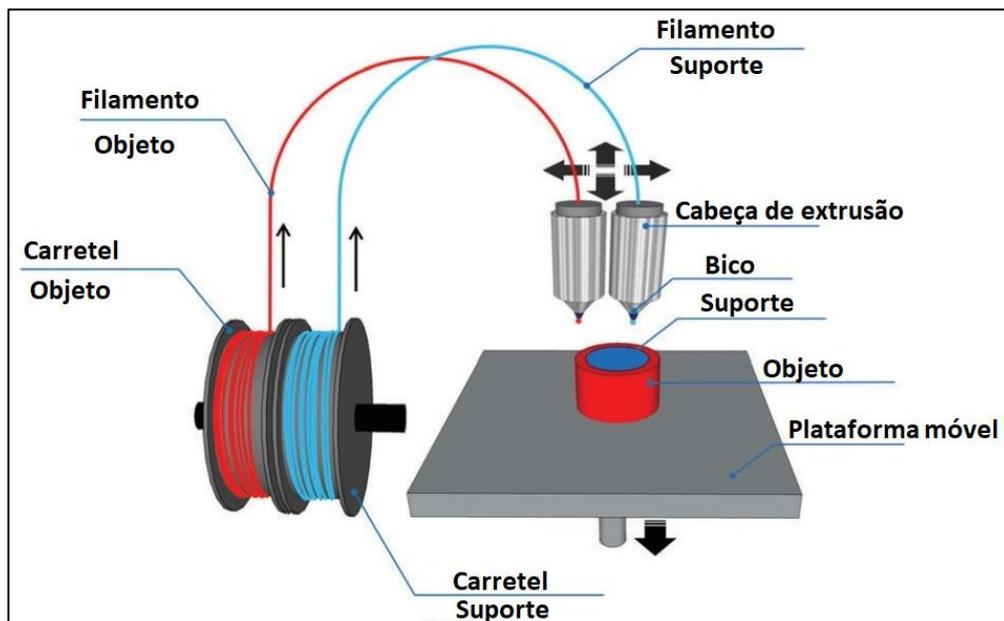
podem influenciar na resolução da SLS tais como o a potência do feixe de laser e dos parâmetros da impressora (velocidade do rolo, potência e ótica do laser, espaçamento e a velocidade de varredura)^{67,71,74}.

Os materiais utilizados na SLS podem ser de plástico, madeira, metal (alumínio, titânio, bronze, etc.), cerâmica, polietileno, acrílico, proteína, liga de aço, policaprolactona, poliamida (náilon), entre outros^{67,70,71,73}. Em 1992, Carl Deckard criou a sua primeira empresa Desktop Manufacturing Corporation (DTM) para produzir e comercializar impressoras 3D baseada em SLS. Porém, a concorrente 3D Systems acabou adquirindo a empresa DTM^{75,79}. Carl Deckard conseguiu fundar outra empresa Sinterstation 2000 para comercializar a tecnologia 3D no mercado⁷⁹.

No final dos anos 80, S. Scott e Lisa Crump patentearam um novo método de impressão tridimensional chamado de Modelagem por Fusão e Deposição (FDM)^{73,75,79} ou Fabricação com Filamento Fundido (FFF)^{65,66,74}. No ano seguinte ambos criaram a Stratasys para comercializar o produto⁷⁹. Com a expiração da patente da Stratasys em 2009^{66,75} o uso da FDM ganhou grandes proporções em várias áreas devido a maior disponibilidade, simplicidade, alta velocidade, impressão multimaterial, ampla gama de filamentos, compactação das impressoras 3D e preços acessíveis^{67,68,71,73,80}. Todos esses fatores contribuíram para a FDM ser a técnica de manufatura aditiva mais utilizada em impressões 3D^{70,74,80}.

O funcionamento de uma impressora FDM é apresentado na Figura 5 a seguir. O filamento termoplástico ou fio de metal presente no carretel é guiado para a cabeça de extrusão onde é aquecido até o estado fundido ou semi-fundido. Posteriormente, o polímero é extrusado pelo bico dispensador camada por camada na superfície da plataforma móvel formando a estrutura desejada. À medida que as camadas são depositadas na base de construção elas se solidificam formando uma camada firme e uniforme sobre a camada anterior^{54,67,68,71,73–75,78–80}. As impressoras FDM viabilizam o uso de uma segunda cabeça de extrusão para imprimir um objeto utilizando, simultaneamente, dois filamentos. Isso permite imprimir o material suporte juntamente com a peça de interesse^{67,71,73,74}.

Figura 5 – Diagrama esquemático de funcionamento de uma impressora 3D de Modelagem por Fusão e Deposição (FDM).



Fonte: Adaptado de Ambrosi e Pumera, 2016.⁷³

O diâmetro do bico dispensador, o preenchimento da peça, a complexidade da geometria, as dimensões do objeto, a espessura e o preenchimento da camada, influenciam diretamente na velocidade de impressão de uma impressora FDM, entretanto o aumento da velocidade compromete a resolução e a resistência da estrutura^{71,74}. A temperatura do bico extrusor deve ser alta o suficiente para fundir completamente o material para evitar desvios na estrutura final. Além disso, quando a temperatura excede o ponto de fusão do material ocorrerá a redução da viscosidade e do tempo de solidificação do filamento. Outro fato relacionado a temperatura é que a velocidade de impressão deve permitir o contato por tempo suficiente entre o material e a cabeça de extrusão⁷⁴.

O pós-processamento de peças produzidas por FDM podem requerer um polimento ou vapor para alisar a superfície, remoção do material suporte por ruptura ou trituração, preenchimento de lacunas, lixamento para arredondar os cantos e correção de falhas com acetona ou resina epóxi^{71,74}. As impressoras FDM geralmente apresentam menor custo do que outros tipos de impressoras 3D disponíveis^{74,80}.

Os materiais mais utilizados em FDM são polímeros como, por exemplo, policaprolactona (PCL), álcool polivinílico (PVA), polipropileno (PP), poliestireno de alto impacto (HIPS), politereftalato de etileno (PET), policapoliâmida (PA),

elastômeros termoplásticos (TPE) e polietileno tereftalato de etileno glicol (PETG)^{54,68,69,71-75,78,80}. Outros tipos de filamentos puros também podem ser empregados tais como fio de cobre e vidro^{68,71,79}. O pré-requisito para um filamento ser selecionado para a FDM é a sua inerente viscosidade. Quando o filamento é submetido ao aquecimento a sua viscosidade deve alta o suficiente para fornecer o suporte estrutural da camada e baixa o suficiente para permitir a sua extrusão no bico dispensador⁶⁷. Outra característica dos polímeros empregados na FDM é a sua capacidade de ser remodelado, ou seja, um termoplástico que amolece sob aquecimento e solidifica rapidamente com o resfriamento^{83,84}.

Os filamentos termoplásticos ácido polilático (PLA), acrilonitrila butadieno estireno (ABS) e policarbonato (PC) dominam o universo FDM visto que possuem baixa temperatura de fusão e menor custo^{67,74,78,85}. O ABS é o termoplástico mais utilizado desde os primórdios da impressão 3D, pois além do baixo custo o ABS é durável, resistente, pode ser reutilizado, é leve e é facilmente extrusado^{54,65,75}. Entretanto, necessita de alta temperatura de impressão 210 – 250°C (baixa condutividade térmica), libera gases tóxicos durante a impressão e a plataforma de construção deve estar aquecida para evitar o empenamento do objeto^{75,78,85,86}.

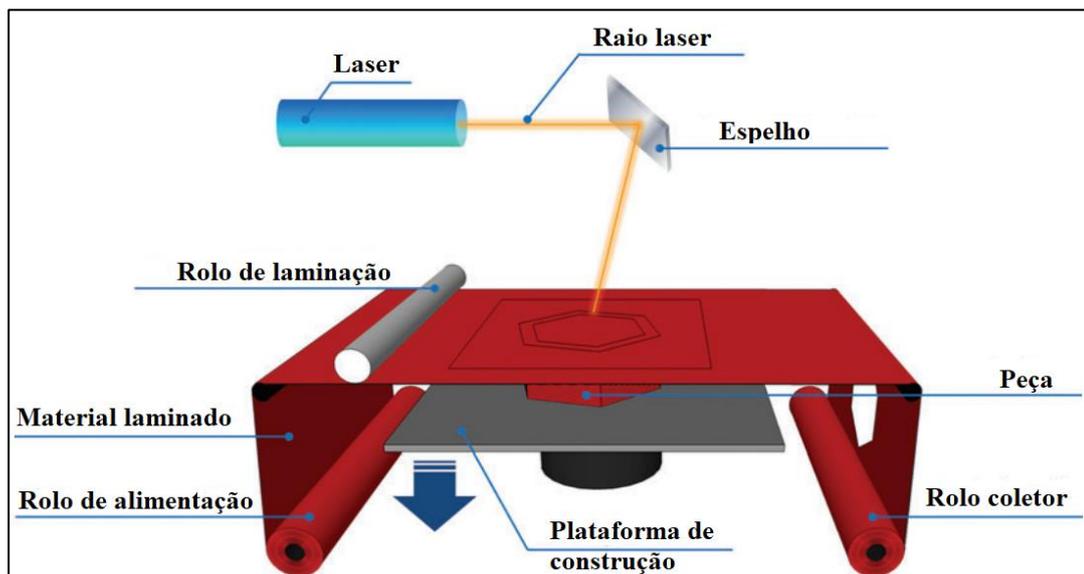
O PLA é considerado um polímero ambientalmente amigável em relação aos outros termoplásticos, pois é um material biodegradável derivado de fontes renováveis como o milho, cana-de-açúcar, trigo e arroz^{54,75,87}. A temperatura de fusão do PLA é varia de 180 - 230°C⁶⁵, mais baixa do que a temperatura de impressão do ABS, pois a temperatura de transição vítrea do PLA (60 - 65°C) é menor do que temperatura do ABS (105°C)^{54,75,87}. Esse termoplástico custa aproximadamente 5 euros (kg), é biocompatível com o corpo humano, não necessita de plataforma aquecida na impressão e é reciclável^{54,75,85-87}.

Muitos trabalhos relatam o uso de materiais compósitos que conferem condutividade ou o aumento da resistência mecânica do objeto como, por exemplo, PLA/grafeno, PLA/carbon black, PP/fibra de vidro, ABS ou PP/cristal líquido termotrópico, ABS ou PLA/fibra de carbono, ABS/nanotubos de carbono de parede simples, entre outros^{54,69,70,88}. O preço dos filamentos termoplásticos mais utilizados na FDM são mais acessíveis, porém o valor de materiais que possuem catalisadores, reforços ou outros tipos de produtos em sua composição são dispendiosos^{54,74}.

A Fabricação de Objetos Laminados (LOM) é uma técnica que combina manufatura aditiva e manufatura subtrativa⁷¹. A LOM foi desenvolvida pela empresa

Helisys Inc. em 1991 e consiste no empilhamento de folhas laminadas para formar um objeto 3D^{70,73,75,79}. A Figura 6 apresenta o esquema de uma impressora LOM. Primeiramente o material laminado é espalhado sobre a plataforma de construção pelo rolo de laminação que é responsável por comprimir e aquecer o material para aderi-lo na plataforma. Posteriormente um laser de CO₂ ou sistema de lâminas corta a folha laminada de acordo com o G-CODE. Em seguida a plataforma de construção desce e uma nova camada de folha laminada é espalhada sobre o leito. Esse processo é repetido camada por camada até o fim da impressão^{71,73,75,77}. A união de cada camada é definida pelo tipo de material utilizado na impressão podendo ser coladas por adesivos ou técnicas de soldagem⁷³. O material laminado excedente é removido facilmente no pós-processamento do objeto⁷⁷.

Figura 6 – Esquema de funcionamento de uma impressora LOM.



Fonte: Adaptado de Ambrosi e Pumera, 2016⁷³.

A resolução das peças impressas empregando LOM depende do material empregado na fabricação⁷⁵ e rolos maiores favorecem a colagem completa devido a homogeneização da tensão⁷⁰. A temperatura, a velocidade do feixe de laser e a espessura das camadas influenciam na aspereza da superfície⁷¹. Os objetos impressos usando LOM não necessitam de material suporte⁷¹, já que o material excedente proporciona apoio para as partes pendentes e para as paredes com espessura fina⁷⁷. A LOM possui outras vantagens como, por exemplo, imprime peças grandes com maior velocidade de impressão do que outros processos de prototipagem rápida⁷¹ e apresenta versatilidade^{71,73}. Apesar de suas vantagens, a impressora LOM gera muito desperdício

de material⁷⁰, não permite imprimir uma peça multimaterial, possui algumas limitações de design e também limitações nas propriedades mecânicas^{71,73}. Os materiais utilizados na impressão LOM podem ser compósitos, papel, tecidos, materiais sintéticos, cerâmicas, metais e plásticos^{70,71,73,77}.

A manufatura aditiva tem contribuído fenomenalmente para diversas áreas como, por exemplo, em engenharia eletrônica, arquitetura, indústria, moda, eletroquímica, educação, medicina, estudos ambientais, pilhas a combustível, informática, aeroespacial, indústria nuclear, instrumentos agrícolas, biomedicina, área alimentícia, implante dentário, etc^{54,67-75,77-80,87-89}. Esses objetos são impressos empregando a técnica de impressão mais conveniente de acordo com a complexidade da peça, fator econômico e o tipo de aplicação⁶⁸. A Figura 7 apresenta alguns exemplos de objetos 3D empregado em situações do cotidiano.

Figura 7 – Os capacetes utilizados pelos astronautas Bob Behnken e Doug Hurley em uma missão espacial com peças impressas em 3D (A); Típicos materiais de laboratório (B); Protótipo para treinar a coleta de exame de COVID-19 (C); Modelo cardíaco de um paciente real para simulação pré-cirúrgica (D); Peça construída usando uma impressora 3D a bordo do foguete chinês Chang Zheng 5B (E) e garras desenvolvidas para capturar espécies marinhas em águas profundas (F).



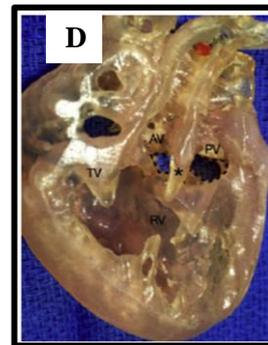
Fonte: Adaptado de Liu *et al.*, 2021⁸⁸.



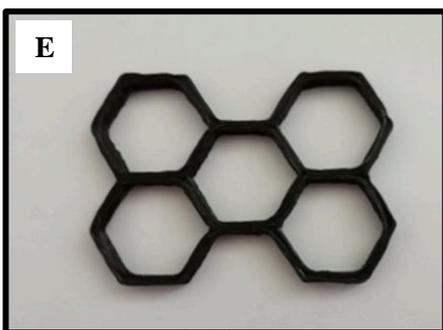
Fonte: Adaptado de Hartings e Ahmed, 2019⁷⁸.



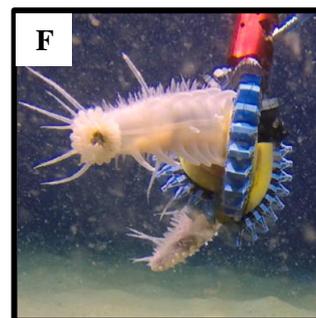
Fonte: Adaptado de Kumar e Pumera, 2021⁶⁸.



Fonte: Adaptado de Tsai *et al.*, 2018⁸⁹.



Fonte: Adaptado de Liu *et al.*, 2021⁸⁸

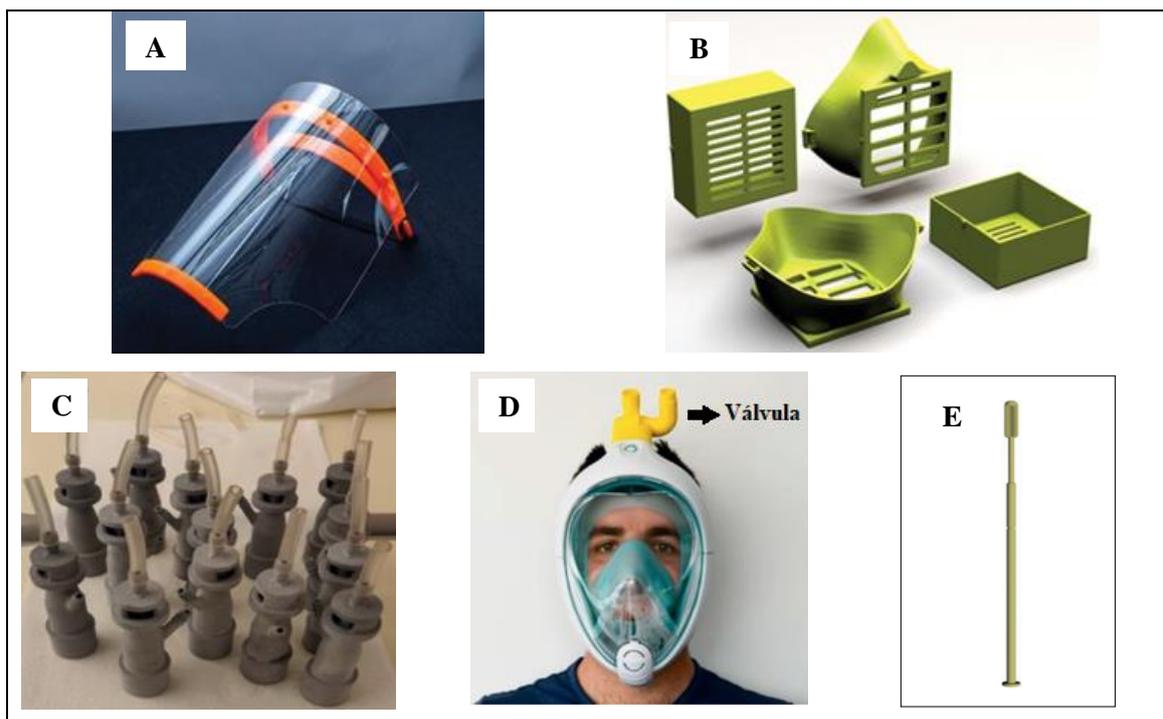


Fonte: Adaptado de Liu *et al.*, 2021⁸⁸.

Recentemente, a tecnologia de impressão 3D foi extremamente relevante para suprir a escassez de equipamentos na pandemia da COVID-19. A manufatura aditiva foi empregada na fabricação de máscaras de proteção, equipamento de proteção individual, ventilador mecânico, respirador (N-95 ou similar), óculos de segurança, câmaras de isolamento, vidros de proteção, cotonetes para teste de COVID-19 e protetor

facial ^{68,88,90}. A Figura 8 mostra algumas peças que foram impressas usando tecnologia 3D e que foram distribuídas nos centros médicos.

Figura 8 – Protetores faciais (Prusa®) (A); Máscara de proteção facial com filtro substituível (B); Válvulas respiratórias (Isinnova®) (C); Máscara de mergulho adaptada com uma válvula Charllote impressa em 3D para atuar como respirador (Isinnova®) (D) e cotonetes/swab de baixo custo desenvolvidos para exame de COVID-19 (E).



Fonte: Adaptado de Kumar e Pumera, 2021⁶⁸.

As canetas 3D foram lançadas mais recentemente no mercado como uma alternativa as impressoras FDM e tem sido utilizadas mais comumente por entusiastas da impressão 3D, artistas e crianças^{59,90}. Embora as canetas 3D tenham começado como passatempo, atualmente ela tem sido utilizada também no campo do ensino (por exemplo na construção de modelos matemáticos e químicos) e pesquisa (por exemplo em Química Analítica e Eletroanalítica).

O funcionamento das canetas 3D é similar as impressoras FDM, no qual o filamento termoplástico é fundido e depositado em uma superfície mais fria^{59,90-92}. Entretanto, as canetas 3D possuem limitações no intervalo de velocidade de impressão e na faixa de temperatura do bico (60-220°C) bem como na reprodutibilidade da impressão (artesanal, dependente da habilidade do operador^{59,90}). A Figura 9 ilustra as diferenças entre um objeto fabricado com a impressora 3D⁹³ e um mesmo design

fabricado artesanalmente com uma caneta 3D⁹⁴. Nesse sentido, o operador não consegue reproduzir as mesmas variáveis de impressão tais como a distância entre o bico e a plataforma, as dimensões do objeto (tamanho e forma) e as posições dos eixos x, y e z⁵⁹. Uma estratégia para contornar a falta de reprodutibilidade das canetas 3D é o emprego de moldes para padronizar a produção das peças^{59,91,92,95}. Uma das vantagens das impressoras 3D FDM é o baixo custo (a partir de US\$ 189), porém o valor das canetas 3D mais simples é consideravelmente menor (US\$ 10 a 25)⁹⁰.

Figura 9 – Comparação do design de uma impressão tridimensional da torre Eiffel realizada por uma impressora 3D (A) e por uma caneta 3D (B).



Fonte: Adaptado de Mercado livre, 2021⁹³.



Fonte: Adaptado de Tecmundo, 2021⁹⁴.

Além disso, as canetas 3D são portáteis, de fácil manuseio, não precisam de softwares, possuem menor tempo de impressão, fácil manutenção e consumo reduzido de filamentos^{59,91,92}, todos esses fatores corroboram para a caneta 3D ser considerada uma impressora FDM portátil^{91,92}. A Figura 10A mostra as partes internas e a Figura 10B é ilustração da caneta 3D com o filamento inserido. Os componentes internos dessa ferramenta são: (1) polímero termoplástico; (2) motor com engrenagem; (3) tubo para guiar o filamento; (4) botões de comando; (5) bico aquecido (60-220°C) e (6) polímero fundido^{91,92}.

Figura 10 – Representação simplificada de uma caneta 3D.



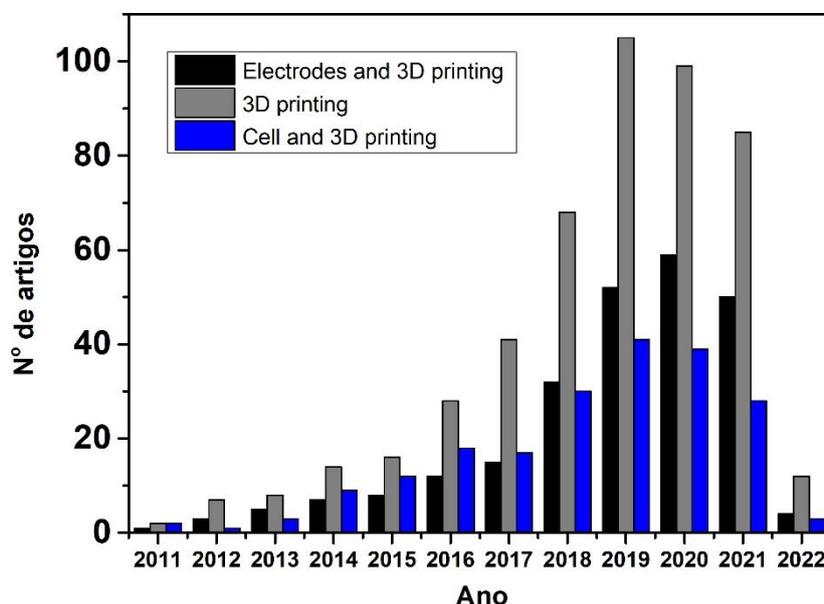
Fonte: Adaptado de João *et al.* 2020⁹².

1.5 Aplicação da tecnologia 3D na eletroanalítica no desenvolvimento de células, sensores e eletrodos

Na Química Eletroanalítica, a impressão 3D FDM é a tecnologia mais empregada para a construção de sistemas eletroquímicos devido ao menor custo (impressoras e filamentos poliméricos) em comparação às outras tecnologias de manufatura aditiva^{54,69,80,92}. A impressão 3D é interessante tanto para a construção do corpo de células eletroquímicas poliméricas (1), quanto para a fabricação de eletrodos (2)^{54,96}, desde que sejam utilizados filamentos poliméricos adequados tais como: (1) polímeros termoplásticos isolantes (p.ex. ABS e PLA) e (2) filamentos termoplásticos condutores provenientes da mistura de PLA ou ABS isolante com material condutor, como grafite, grafeno (GR) ou carbon black (CB)^{54,59,66,80}.

Assim, dispositivos eletroquímicos de análise podem ser projetados de modo personalizado e impressos no próprio laboratório a baixíssimos custos. Logo, o desenvolvimento de novas células eletroquímicas personalizadas fabricadas por impressão em 3D é uma tendência na Eletroquímica e Eletroanalítica. A Figura 11 mostra o resultado da pesquisa usando os termos “*electrodes and 3D printing*”, “*3D printing*” e “*Cell and 3D printing*” no *Web of Science* em 10/02/2022. Observa-se que o número de publicações aumentou consideravelmente a partir de 2015, demonstrando a relevância da tecnologia de impressão 3D na pesquisa científica de modo geral e na Eletroanalítica e Eletroquímica.

Figura 11 – Número de artigos publicados encontrados após pesquisa no *Web of Science* usando as palavras chaves “electrodes and 3D printing”, “3D printing” e “Cell and 3D printing” na área de eletroquímica.



É fundamental que filamentos termoplásticos empregados na fabricação de sensores eletroquímicos sejam eletricamente condutores⁹⁷. Esses filamentos compósitos podem ser obtidos pela mistura de materiais carbonáceos (nanotubos de carbono, carbon black, grafite e grafeno)^{59,90,98} ou metais com a matrix polimérica⁹². Compósitos de PLA ou ABS com material condutor são atualmente comercializados por várias empresas tais como ProtoPasta® (CB-PLA), Black Magic® (GR-PLA), 3DEdge® (C-ABS) e Amolen®(C-PLA)^{55,59,66}.

Em geral, os sensores impressos em 3D construídos usando os filamentos condutores apresentam desempenho eletroquímico inicial ruim por causa de suas altas resistividades elétricas devido à maior quantidade do polímero isolante nos compósitos (tipicamente maior do que 80% em massa)^{59,90}. A performance desses sensores vem sendo aprimorada com o uso de pré-tratamentos que envolvem o uso de solventes (DMF ou acetona), ativação química/eletroquímica, polimento mecânico, modificação da superfície, processo Fenton, laser de CO₂ ou tratamento térmico, entre outros^{56,59,60,69,90,99}. De modo geral, quando o eletrodo é submetido ao pré-tratamento o polímero isolante é removido parcialmente da superfície do sensor expondo as partículas condutoras^{59,69,90,91}.

Um exemplo de ativação usando solvente é o uso de dimetilformamida (DMF)^{69,90,100,101} que remove o polímero isolante superficial por meio de um processo de entumescimento^{66,102}. A remoção física do PLA usando DMF por dissolução é o processo de ativação empregado nos eletrodos GR-PLA^{90,96,101,102}. Também foi relatado que usar o DMF e sequencialmente realizar a ativação eletroquímica é mais eficaz do que somente a imersão do eletrodo GR-PLA em DMF¹⁰³. Todavia, pode ser difícil usar o DMF em ambientes menos formais devido a sua inerente toxicidade hepática^{66,91}.

Outro exemplo é a ativação química/eletroquímica do filamento comercial de CB-PLA (Protopasta[®] condutivo), que utiliza hidróxido para promover uma reação de saponificação com o PLA e simultaneamente é aplicada uma sequência de potenciais elétricos para auxiliar a remoção do polímero presente na superfície do sensor^{66,69,91,92}. Além disso, Wirth *et al.* constatou que a remoção do PLA por saponificação é melhor do que utilizar somente o processo físico (DMF) no CB-PLA. Esse processo de ativação é menos tóxico e mais rápido do que tratamentos com solventes orgânicos⁶⁶.

A tecnologia 3D tem sido explorada em outras áreas da química como, por exemplo, na produção de supercapacitores, reatores fotoeletrocatalíticos, dispositivo colorimétrico, baterias de íon lítio, evolução de hidrogênio, processo de separação de água, microscopia eletroquímica de varredura, células a combustível, eletrossíntese orgânica, células espectroeletroquímicas, biossensores, células eletroquímicas miniaturizadas e dispositivos microfluídicos, entre outros^{59,65,69,91,96,100,104,105}. A Tabela 1 apresenta alguns exemplos de células eletroquímicas (sensores + corpo da célula) impressas em 3D encontrados na literatura para diversas aplicações eletroanalíticas.

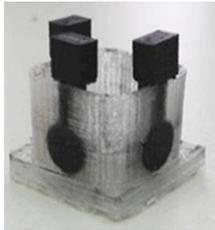
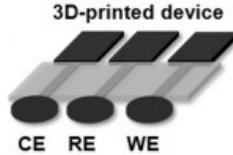
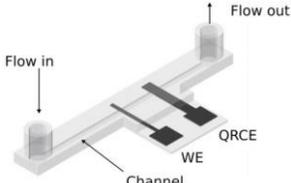
Por meio da Tabela 1, observa-se que já foram construídos dispositivos, células e sensores usando impressora 3D. Existem dispositivos e células que foram impressos totalmente usando uma impressora 3D. Nestes casos foram utilizados dois tipos de filamentos diferentes, sendo que no corpo da célula foi utilizado filamento isolante e para fabricar os eletrodos (ET, ER e CE) foram utilizados filamentos compósitos condutores^{55-58,60,61,69,91,96}.

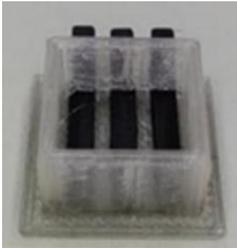
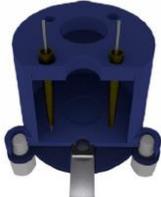
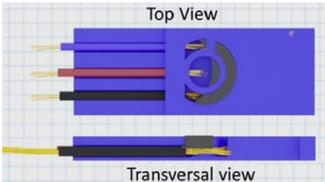
Em outros trabalhos apenas o corpo foi impresso usando a impressora 3D^{80,91}. A caneta 3D foi utilizada no artigo de Oliveira *et al.* e Cardoso *et al.* para fabricar somente os eletrodos (ET, ER e CE)^{59,91}. Os benefícios da impressão 3D estão sendo explorados de diversas maneiras pelos pesquisadores da forma mais conveniente em cada caso, seja utilizando apenas a impressora 3D, apenas a caneta 3D ou combinando ambos

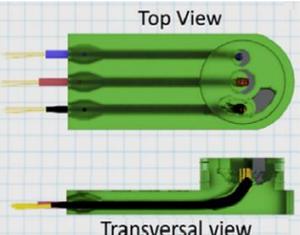
instrumentos. Além disso, células e/ou eletrodos impressos em 3D tem sido empregado em análises de espécies orgânicas e inorgânicas.

Tabela 1 – Dispositivos eletroquímicos impressos em 3D com suas respectivas técnicas, volumes, matérias-primas e procedimentos de ativação.

Impressão 3D	Volume	Material	Design	Ativação do ET	Analito(s)	Ref.
Impressora ED* FDM	Não informado	Eletrodos: CB-PLA Corpo da célula: ABS		Eletroquímico + Fenton	Cádmio, chumbo, ácido úrico e midazolam	Silva-Neto <i>et al.</i> ⁶⁰
Impressora ED* FDM	Não informado	ER e EA: Carbono-PLA Corpo da célula: PLA		Não se aplica	Cádmio	Livas <i>et al.</i> ⁶¹
Impressora ED* FDM	Não se aplica	Eletrodos: Carbono-PLA Anel: TPU		Eletrodeposição de ouro no ET	Glicose	Katseli <i>et al.</i> ⁵⁷

Impressora FDM	5000 μL	Eletrodos: CB-PLA Corpo da célula: ABS*** ou PLA		1° Polimento 2° Solução de NaOH + aplicação de potencial	Paracetamol, vitamina C, ácido úrico e dopamina,	Richter <i>et al.</i> ⁶⁹
Impressora ED* FDM	1980 μL	Eletrodos: Carbono-ABS*** Corpo da célula: PLA****		Não houve	Cafeína e Paracetamol	Katseli <i>et al.</i> ⁵⁵
Impressora ED* FDM	Não se aplica	Eletrodos: Carbono-PLA Corpo da célula: PLA****		Não houve	Cafeína, Mercúrio e Glicose	Katseli <i>et al.</i> ⁵⁸
Impressora ED* FDM	75 μL (canal)	Eletrodos: GR-PLA***** Corpo da célula: PLA****		Ouro eletrodepositado	Catecol e Ferroceno	O'Neil <i>et al.</i> ⁹⁶

Impressora ED* FDM	500 μ L	Eletrodos: PLA**** com carbono Corpo da célula: PLA****		Eletrodeposição de ouro no ET	Mercúrio	Katseli <i>et al.</i> ⁵⁶
Impressora FDM	10000 - 80000 μ L	Eletrodo (ET): GR-PLA Corpo da célula: ABS***		Não houve	Dopamina e Catecol	Cardoso <i>et al.</i> ⁸⁰
Caneta 3D FDM	50 μ L	Eletrodos: CB-PLA Corpo da célula: fenolite (não impresso em 3D)		1° Polimento com lixa 2° Solução de NaOH + aplicação de potencial	Ácido Ascórbico e Paracetamol	Oliveira <i>et al.</i> ⁵⁹
Caneta 3D FDM e impressora FDM	Não informado	Eletrodos: CB-PLA Corpo da célula (molde): ABS***		1° Polimento 2° Solução de NaOH + aplicação de potencial	Ferricianeto e Ferrocianeto	Cardoso <i>et al.</i> ⁹¹ (2020)

Caneta 3D FDM e impressora DLP**	100 μ L	Eletrodos: CB-PLA Corpo da célula (molde): resina acrílica		1° Polimento 2° Solução de NaOH + aplicação de potencial	2,4,6- Trinitrotolueno (TNT)	Cardoso <i>et al.</i> ⁹¹ (2020)
---	-------------	--	---	---	------------------------------------	---

*ED: extrusão dupla

**DLP: Processamento de luz digital

***ABS: Acrilonitrila estireno butadieno

****PLA: Ácido polilático

*****GR-PLA: Ácido polilático com grafeno

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo geral

- Uso de uma célula BIA impressa em 3D e o desenvolvimento de uma célula impressa em 3D miniaturizada para a triagem e quantificação de fármacos em amostras de interesse farmacêutico (legais) e forense (contrabandeadas, falsificadas ou adulteradas).

1.6.2 Objetivos específicos

Capítulo II:

1. Desenvolver uma metodologia para a determinação de tadalafila em formulações farmacêuticas empregando uma célula BIA impressa em 3D com detecção amperométrica (BIA-AD);
2. Desenvolver uma metodologia para triagem de tadalafila em amostras genuínas e adulteradas empregando uma célula BIA impressa em 3D com detecção por amperometria de múltiplos pulsos (MPAD).

Capítulo III:

1. Modelar e fabricar uma célula eletroquímica em ABS (3D-MSEC) usando a impressora 3D FDM;
2. Produzir os eletrodos de trabalho (usando um filamento condutivo - CB-PLA), com a caneta 3D e um molde para padronização das dimensões;
3. Otimizar os eletrodos de pseudo-referência e auxiliar impressos com CB-PLA empregando a caneta 3D;
4. Caracterização superficial dos eletrodos de trabalho por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura (SEM), e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) na presença de ferricianeto e ferrocianeto;
5. Caracterização eletroquímica dos eletrodos por meio de técnicas voltamétricas na presença de ferricianeto de potássio, paracetamol e cafeína;
6. Investigar a aplicabilidade do conjunto 3D-MSEC e sensor para amostragem direta e eletroanálise do pó de cada droga (etinilestradiol, losartana, citrato de sildenafil e tadalafila) por meio de técnicas voltamétricas;

Capítulo IV:

1. Explorar a célula eletroquímica impressa em 3D (3D-MSEC) para a triagem e determinação de citrato de sildenafil em medicamentos legais e ilegais (contrabandeados e falsificados) fornecidos pela Polícia Civil de Belo Horizonte - MG;
2. Investigar o comportamento eletroquímico do SC na folha de grafite (GS) usando a 3D-MESC para determinação desta espécie em amostras genuínas;
3. Submeter os medicamentos à análise por cromatografia líquida de alta eficiência;
4. Realizar a triagem de medicamentos falsificados por meio da amostragem direta do pó da respectiva droga no GS (sem diluição prévia);

Capítulo II: Triagem rápida e determinação de tadalafila em produtos farmacêuticos por análise de injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica

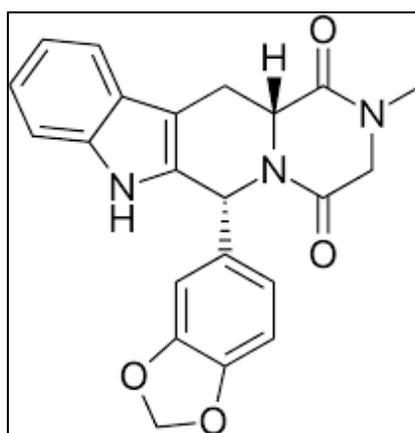
Triagem rápida e determinação de tadalafila em produtos farmacêuticos por análise de injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica

Essa metodologia contém uma adaptação do artigo publicado intitulado: “Fast screening and determination of tadalafil in pharmaceuticals by batch injection analysis (BIA) with amperometric detection” de autoria de Fabiano Mendonca de Oliveira, Priscila Alves Ferreira, Camila Garcia Neves, Tamires Macedo Rosa, Wallans Torres Pio dos Santos, Edmar Isaías de Melo e Rodrigo Amorim Bezerra da Silva. Disponível online: DOI:10.1002/elan.202060106

2.1 Introdução

A disfunção erétil (DE) é definida como a persistência ou incapacidade recorrente de um homem para obter e/ou manter uma ereção peniana suficiente para um desempenho sexual satisfatório. De acordo com o estudo de Massachusetts sobre o envelhecimento masculino, estima-se que a DE atingirá 322 milhões de homens em 2025¹⁰⁶. O citrato de sildenafil (SC) e a tadalafila (TAD) são os medicamentos mais vendidos para o tratamento da disfunção erétil. Ambos atuam pela inibição da enzima fosfodiesterase tipo 5 (PDE5), que permite a dilatação dos vasos sanguíneos do pênis, aumentando o fluxo sanguíneo e a ereção sob estimulação sexual¹⁰⁷. A estrutura química da TAD, (6R,12aR)-6-(1,3-benzodioxol-5-il)-2-metil-2,3,6,7,12,12a-hexahidropirazino[1',2':1,6]pirido[3,4-b]indol-1,4-diona, é apresentada na Figura 12.

Figura 12 - Estrutura química da tadalafila.



Fonte: adaptado de Oliveira *et al.*¹⁰⁸ 2020.

O SC (Viagra[®]) foi introduzido no mercado farmacêutico em 1998 pelo laboratório Pfizer e o TAD (Cialis[®]) em 2003 pelo laboratório Eli Lilly. O Cialis[®] oferece os mesmos efeitos do Viagra[®], porém, o Cialis[®] tem um efeito mais prolongado

(até 36 horas), que é 6 vezes maior do que fornecido pelo Viagra[®], assim o Cialis[®] ficou conhecido como a pílula do fim de semana. Atualmente, ambos os ingredientes farmacêuticos ativos (API) são comercializados em diferentes dosagens e com uma variedade de formulações farmacêuticas genéricas, o que contribui para a considerável diminuição do custo de aquisição. No entanto, os inibidores da enzima fosfodiesterase do tipo 5 (PDE5) ainda são um dos medicamentos mais falsificados do mundo, com um grande número de apreensões nos últimos quinze anos^{4,109-111}.

O comércio ilegal de medicamentos ilícitos é um problema de saúde pública, uma vez que a autenticidade de tais produtos é completamente desconhecida, pois a composição química pode ser distinta do valor do rótulo como, por exemplo, outro API, sem o API, o API correto com a dosagem errada ou o API com adulterantes^{1,2,4,5,24}. Assim, a análise química de TAD (qualitativa e quantitativa) e outros inibidores de PDE5 em produtos farmacêuticos é essencial para as ciências farmacêuticas e forenses. No entanto, não existe um método oficial para controle de qualidade de TAD em nenhum compêndio farmacêutico em todo o mundo.

Um grande número de métodos analíticos para determinação de TAD em produtos farmacêuticos autênticos ou falsos foram propostos: espectrofotometria UV¹¹², cromatografia capilar¹¹³, eletroforese capilar¹¹⁴, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)¹¹⁵ e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS)¹¹⁶. Embora tais métodos de separação tenham nobre confiabilidade, eles apresentam limitações como o alto custo e protocolos de alto consumo de tempo. Para triagem de TAD, métodos mais portáteis, como calorimetria de varredura diferencial e espectroscopia Raman, combinados com ferramentas quimiométricas, também foram propostos^{117,118}.

Nesse cenário, os métodos eletroanalíticos são atrativos, pois apresentam simplicidade, sensibilidade, baixo consumo de reagentes, baixo custo relativo e instrumentos portáteis. Poucos métodos eletroanalíticos foram relatados na literatura para determinação de TAD em produtos farmacêuticos, usando detecção voltamétrica pulsada em condições estacionárias em eletrodos de carbono não modificados¹¹⁹ e modificados¹²⁰⁻¹²². Além disso, esses trabalhos não visam a triagem de TAD, somente a determinação de TAD em produtos farmacêuticos autênticos para fins de controle de qualidade. Algumas desvantagens típicas estão relacionadas à voltametria estacionária, baixa frequência analítica e passivação dos eletrodos de trabalho, o que reduz a sensibilidade, reprodutibilidade e faixa linear do métodos¹²³.

Para melhorar essas limitações, sistemas hidrodinâmicos como a análise por injeção em batelada com detecção amperométrica (BIA-AD)¹²⁴ têm sido utilizados. Nas metodologias por BIA-AD, um pequeno volume de solução de analito (ordem de microlitros) é injetado de forma rápida e reprodutível por uma micropipeta eletrônica sobre o eletrodo de trabalho polarizado e, em seguida, bastante diluído em um maior volume de eletrólito (ordem de mililitros). Como resultado, são produzidos sinais de corrente transiente (proporcionais à concentração do analito). O BIA-AD é um sistema simples, robusto e portátil e apresenta respostas mais precisas, sensíveis e rápidas do que os métodos eletroquímicos estacionários. Eletrodos de diamante dopado com boro (BDD) também têm sido usados em uma infinidade de métodos eletroanalíticos, devido à sua superfície relativamente inerte, baixa resistividade e ampla faixa de trabalho. Uma revisão recente resume as aplicações do BDD com sistemas BIA-AD para muitas eletroanálises qualitativas e quantitativas de drogas¹²⁵.

Neste capítulo, dois novos métodos eletroanalíticos são propostos utilizando um eletrodo de trabalho BDD acoplado a um sistema BIA: um para determinação e outro para reconhecimento (triagem) de TAD, ambos em produtos farmacêuticos. O método quantitativo foi realizado utilizando a detecção amperométrica (potencial constante) e a potencialidade deste método foi demonstrada para a determinação de TAD em comprimidos genuínos e genéricos e os resultados foram comparados com um método espectrofotométrico. O método qualitativo foi realizado por meio da detecção amperométrica de múltiplos pulsos (MPAD), em que o perfil químico do fármaco combina três razões entre as correntes de pico obtidas de três amperogramas independentes (obtidos a cada pulso de potencial aplicado no eletrodo BDD). Para demonstrar essa abordagem, as proporções de Cialis[®] foram comparadas ao Cialis[®] adulterado com outra API.

2.2 Metodologia

2.2.1 Reagentes, Soluções e Amostras

Todos os produtos químicos eram de grau analítico e as soluções foram preparados usando água deionizada (resistividade superior a 18 MΩ cm) fornecida por um Sistema Milli-Q (Millipore[®]). O padrão de TAD foi obtido da Sigma-Aldrich[®]. Dimetilsulfóxido (DMSO), ácido acético (99% m/m), bórico (99% m/m) e fosfórico (85% m/m), e hidróxido de sódio foram obtidos da Vetec[®]. As

amostras farmacêuticas comerciais foram adquiridas de uma drogaria local (Cialis® e três formulações genéricas).

O eletrólito suporte composto pela solução tampão Britton-Robinson (BR), foi preparado pela mistura de acético, bórico e ácido fosfórico (0,04 mol L⁻¹ cada). Depois, o pH foi ajustado de 2,0 a 12,0 com uma solução de NaOH 2,0 mol L⁻¹. Devido à baixa solubilidade da TAD em água, uma solução estoque de TAD 10,0 mmol L⁻¹ foi preparada em DMSO. Esta solução estoque foi diluída em tampão BR e ajustada para 5,0% (v/v) de DMSO para eletroanálise.

Para o preparo das amostras comerciais, cinco comprimidos de cada foram pesados e pulverizados em almofariz. Para simular formulações falsas, o Cialis® foi adulterado com outros API's (caféina, dipirona, citrato de sildenafil ou paracetamol). Para isso, 0,1000 g de pó de Cialis® foi misturado homogeneamente com o padrão analítico de outro API (peso <0,0200 g): caféina, dipirona, citrato de sildenafil ou paracetamol. A quantidade exata de cada adulterante adicionado destinava-se a fornecer uma proporção molar igual (14 μmol de TAD: 14 μmol de adulterante). Cada pó foi pesado e transferido para frascos volumétricos de 10,0 mL contendo DMSO. Após, as soluções foram devidamente diluídas em tampão BR (5,0% v/v de DMSO) e foram realizadas as medidas estacionárias (voltametria) ou hidrodinâmicas (BIA-AD e BIA-MPAD).

2.2.2 Instrumentação

As medições eletroquímicas usando voltametria e detecção amperométrica foram realizadas em um mini potenciostato Emstat 1 (PalmSens®) controlada pelo software PSTrace 5. A detecção amperométrica de múltiplos pulsos (MPAD) foi realizada usando um potenciostato/galvanostato μAutolab III e software GPES versão 4.9.007 (Metrohm Autolab®). Uma pequena placa (1 cm × 1 cm) contendo um filme espesso de diamante dopado com boro (BDD) com nível de dopagem de 8000 ppm (Neocoat®) foi usado como o eletrodo de trabalho. Um fio de platina (Pt) e Ag|AgCl|KCl_{sat.} foram usados como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente.

As células eletroquímicas foram construídas em uma impressora 3D (Core A1 GTMax3D®) que realizou a extrusão controlada de um filamento polimérico de ABS (Acrilonitrila Butadieno Estireno) com diâmetro de 1,75 mm. Essas células são apropriadas para o uso de qualquer eletrodo de trabalho planar, bem como em condições de fluxo e batelada⁸⁰. Para as medidas eletroquímicas no sistema BIA, a tampa superior

da célula era constituída por quatro orifícios para montagem do fio de Pt (EA), Ag|AgCl|KCl_{sat.} (ER), agitador mecânico e um suporte para acomodação da ponteira (1,0 mL) da pipeta eletrônica (Eppendorf® Multipette XStream)⁸⁰. Esta ponteira foi colocada em um orifício na direção da placa de BDD colocada no fundo da célula (configuração “wall jet”), mantendo uma distância de 2 mm para garantir uma dispersão mínima da amostra¹²⁶. Essa placa de BDD foi pressionada por uma placa de aço (contato elétrico) contra um anel de borracha (O-ring) que define a área do eletrodo de trabalho de BDD (0,2 cm²) e evita o vazamento da solução. O volume interno da célula BIA e célula estacionária foi cerca de 80 mL e 10 mL, respectivamente.

Antes da eletroanálise, o eletrodo BDD foi tratado catodicamente pela aplicação de -0,1 A durante 300 s em solução de ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹, o que gera uma superfície funcionalizada com grupos hidrogênio (H-BDD)¹²⁷. Posteriormente, 20 voltamogramas cíclicos foram realizados em ácido sulfúrico 0,10 mol L⁻¹ de +0,20 a +1,80 V (vs. Ag|AgCl|KCl_{sat.}) para a estabilização da superfície do eletrodo.

2.2.3 Procedimentos de medição eletroquímica

A voltametria cíclica (VC) foi empregada para estudos preliminares do comportamento eletroquímico da TAD no eletrodo BDD. A detecção amperométrica (AD e MPAD) foi realizada enquanto as soluções eram injetadas de forma reprodutível no BDD colocado na célula BIA (modo “wall-jet”). A AD foi usada para determinação de TDA no sistema BIA, no qual um potencial constante otimizado foi aplicado no eletrodo BDD para conversão redox de TAD. O MPAD foi usado para a triagem de formulações farmacêuticas contendo TAD pura a partir da formulação misturada com outro API. Desse modo, uma sequência de três pulsos de potencial cíclico em função do tempo foi aplicada em um eletrodo BDD: +1,00, +1,20 e +1,50 V (40 ms em cada). Após as injeções, um amperograma independente por pulso foi adquirido. Assim, três razões entre as correntes de pico de cada amperograma ($R_1 = i_{pa1.2V}/i_{pa1.0V}$; $R_2 = i_{pa1.5V}/i_{pa1.2V}$ e $R_3 = i_{pa1.5V} / i_{pa1.0V}$.) foram calculados para obter um perfil relativo de cada amostra.

2.2.4 Método Comparativo (Espectrofotometria UV)

As amostras de TAD também foram quantificadas por um método espectrofotométrico adaptado de Yunoos e colaboradores¹¹², em que os padrões e amostras de TAD foram adequadamente dissolvidos em DMSO e diluídos em tampão

BR (o mesmo meio de ensaio eletroquímico). Por isso, TAD foi medida no comprimento de onda de 284 nm em uma célula de quartzo ($b = 1$ cm) com um Espectrofotômetro DR/4000 UV-VIS (Hach Instruments, Loveland, EUA).

2.3 Resultados e discussões

2.3.1 Estudos Voltamétricos

O comportamento eletroquímico da TAD foi investigado por voltametria cíclica no eletrodo BDD, após o tratamento catódico, em tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ no intervalo de pH de 2,0 a 10,0. A Figura 13A mostra os voltamogramas cíclico obtidos na ausência e presença de TAD e Figura 13B a variação dos potenciais de pico anódico (E_{pa}) e correntes de pico anódico (i_{pa}) em função do pH. A TAD apresentou apenas um processo de oxidação com um pico anódico em torno de $+ 1,0 \text{ V}$ e nenhum processo na varredura reversa na faixa de pH estudada (Figura 13A), mostrando um processo eletroquímico irreversível.

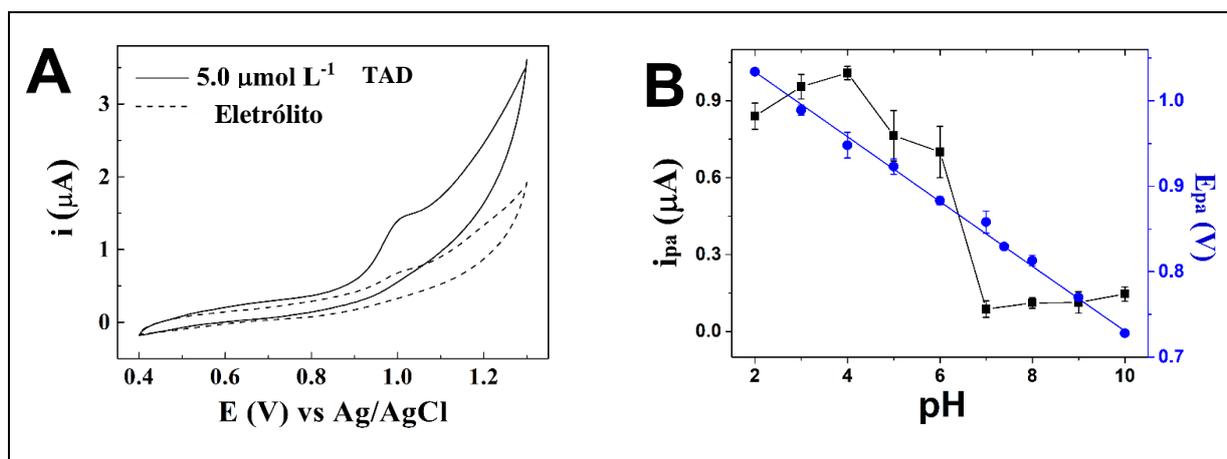
Conforme apresenta a Figura 13B, as correntes de pico mais baixas foram encontradas nos pH de 7,0 a 10,0, devido a precipitação da TAD. A maior corrente de pico foi obtida em pH 4,0, por isso foi escolhido como o valor de pH para o eletrólito suporte. Assim, a solução tampão de acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4) também foi avaliada para determinação de TAD. A melhor corrente e repetibilidade foram obtidas com a solução tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), sendo utilizado para os experimentos hidrodinâmicos BIA (AD e MPAD).

Além disso, observou-se uma relação linear da variação do pH com o potencial de pico, sendo que o potencial de pico anódico se desloca para valores menos positivos ao longo de toda a faixa de pH de modo constante (Figura 13B). Este comportamento é consistente, pois a TAD não apresenta nenhum valor de pK_a neste intervalo de pH¹²⁸. A partir deste estudo, uma inclinação de $- 37,0 \text{ mV}$ por unidade de pH ($R^2 = 0,995$) foi obtido. Este valor está próximo de $- 30 \text{ mV}$, o que sugere que o mecanismo deste processo de oxidação envolve um número de elétrons duas vezes maior que o número de prótons¹²⁹.

O número de elétrons (n) envolvidos na oxidação da TAD foi investigado usando a equação $E_p - E_{p/2} = 47,7 \text{ mV}/\alpha.n$ ¹²⁹ (E_p : potencial de pico, $E_{p/2}$: potencial de meio pico, α : coeficiente de transferência). Usando a VC para oxidação de TAD em pH 4,0 a 50 mVs^{-1} (Figura 13A), o valor de $E_p - E_{p/2}$ é de $85,9 \text{ mV}$ e usando $\alpha = 0,5$ (para sistemas irreversíveis¹²⁹), n foi estimado como dois. Assim, dois elétrons e um próton

estão envolvidos na oxidação de TAD usando BDD em solução tampão BR (pH 4,0). Estas conclusões corroboram com um trabalho anterior para detecção de TAD em um eletrodo de carbono. Nesta investigação, foi proposto que a oxidação ocorre no átomo de nitrogênio no grupo indol, levando à hidroxilação do anel benzeno¹²⁰.

Figura 13 - (A) Voltamogramas cíclicos em meio de tampão BR 0,04 mol L⁻¹ (pH 4,0) com 5% de DMSO antes e após a adição de 5,0 μmol L⁻¹ TAD no eletrodo BDD pré-tratado catodicamente. (B) Dependência do potencial de pico anódico (E_{pa}) e corrente de pico anódico (i_{pa}) de TAD como funções do pH. v: 50 mVs⁻¹.



Fonte: adaptado de Oliveira *et al.*¹⁰⁸ 2020.

2.3.2 Determinação de TAD em produtos farmacêuticos por BIA-AD

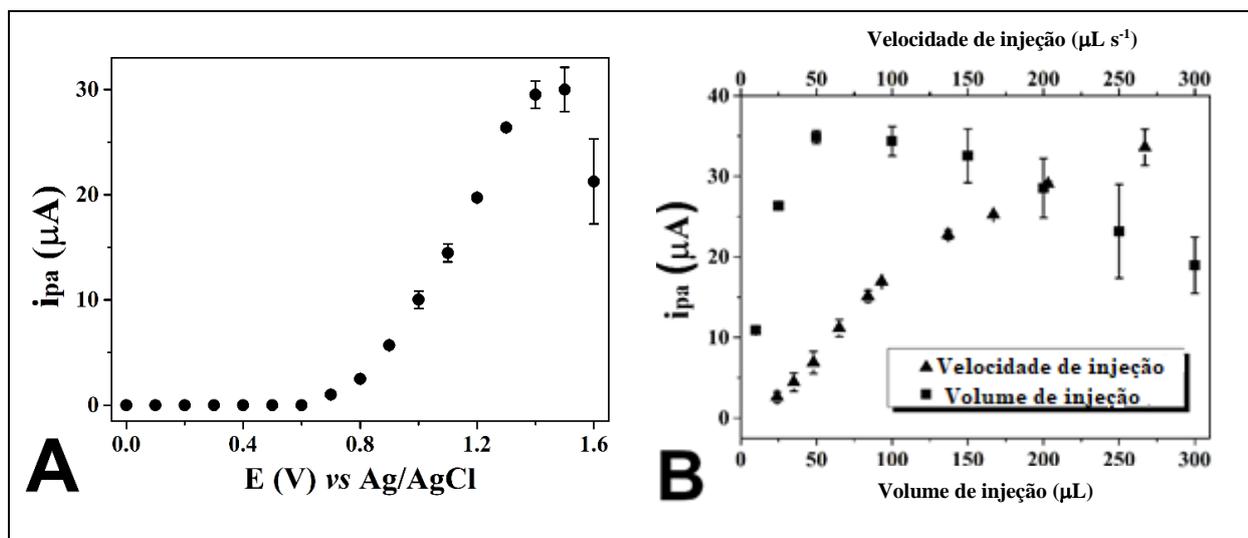
Para a investigação da resposta eletroquímica de TAD no sistema BIA com detecção amperométrica, uma solução de 20,0 μmolL⁻¹ foi injetada em triplicata na célula BIA preenchida com tampão BR 0,04 molL⁻¹ (pH 4,0), enquanto um potencial constante foi aplicado no eletrodo BDD (0,0 a 1,6 V). O voltamograma hidrodinâmico mostrado na Figura 14A foi obtido a partir dos valores médios das correntes de pico (±SD) adquiridas em cada potencial. Conforme apresentado, a TAD inicia sua oxidação em +0,9 V e atinge um valor máximo de corrente em +1,4 V. Em valores de potencial acima disso, foram notados maiores desvios para correntes de pico devido ao aumento da corrente de fundo, como consequência da descarga anódica do eletrólito. Assim, o potencial de +1,3 V foi escolhido em estudos posteriores.

Os parâmetros de BIA (volume de injeção e velocidade de injeção) foram avaliados a fim de obter um sinal com o melhor compromisso entre intensidade e precisão. Tais estudos foram realizados injetando uma solução de TAD 50,0 μmolL⁻¹ em triplicata (em cada condição) e utilizando uma agitação constante (1400 rpm) da

solução na célula BIA, visto que a agitação aumenta a frequência analítica e minimiza a passivação do analito (ou produtos de oxidação) na superfície do eletrodo. Primeiramente, foram avaliados o volume de injeção de 10 a 300 μL . Conforme mostrado na Figura 14B, a corrente de pico aumentou quando valores de 10,0 a 50,0 μL da solução de TAD foram injetados. No entanto, volumes superiores a 50 μL geram maior desvio padrão, como resultado da adsorção de TAD (ou produtos de oxidação) na superfície do BDD. Assim, um volume de 50,0 μL foi selecionado nos próximos experimentos.

Mantendo o volume de injeção de 50,0 μL , variou-se a velocidade de injeção da micropipeta eletrônica (25 a 270 $\mu\text{L s}^{-1}$). Na Figura 14B observa-se que os valores de corrente de pico são proporcionais às velocidades de dispensa. No amperograma, tal efeito é resultado de picos mais finos e mais intensos, devido à diminuição da camada de difusão de Nernst e a redução da dispersão da amostra sobre o BDD¹²⁶. No entanto, notou-se uma menor precisão nas maiores velocidade de injeção (200 e 270 $\mu\text{L s}^{-1}$) devido à rápida passagem de TAD sobre BDD, o que não permitiu registrar um número adequado de pontos de corrente no pico transiente. Assim, a velocidade de injeção de 175 $\mu\text{L s}^{-1}$ foi usada nos experimentos subsequentes.

Figura 14 - Médias das correntes de pico anódico ($\pm\text{SD}$) para cinco injeções de TAD 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no sistema BIA em uma faixa de (A) potenciais aplicados (0 a 1,6 V) e (B) volumes de injeção (10 a 300 μL) e velocidade de injeção (25–270 $\mu\text{L s}^{-1}$). Eletrólito: Tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH 4,0) com 5% (v/v) de DMSO; Agitação mecânica: 1400 rpm; E = + 1,3 V (em B).



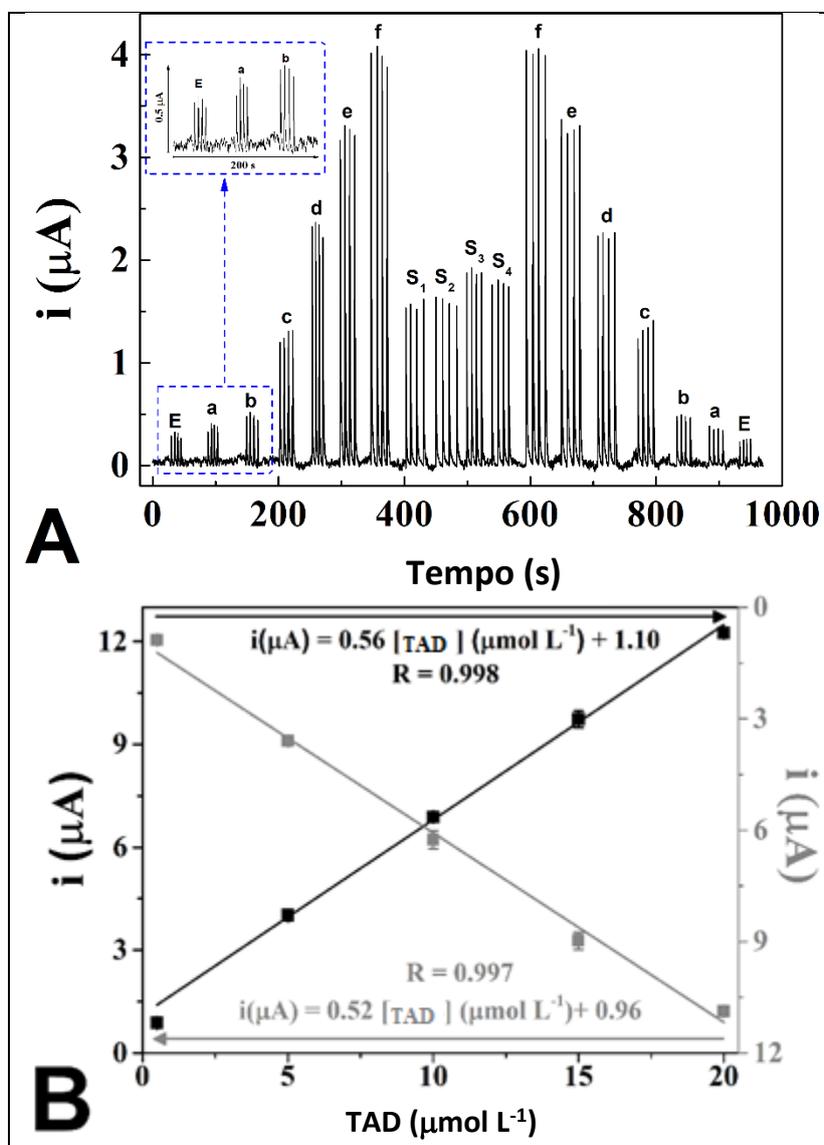
Fonte: adaptado de Oliveira *et al.*¹⁰⁸ 2020.

A Figura 15A mostra o amperograma para injeções em quadruplicadas das soluções de eletrólito (E) e de TDA (0,50 a 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) no sentido crescente e decrescente de concentrações (a-e e e-a, respectivamente) e de quatro comprimidos contendo TAD dissolvidos e diluídos no eletrólito suporte (s₁-s₄). Como apresentando, pequenos picos de corrente foram observados nas injeções da solução eletrolítica, provavelmente devido a mudanças de dupla camada elétrica em condições de fluxo neste potencial aplicado (+1,3 V). Assim, as correntes de pico anódicas (i_{pa}) de todas as soluções de TAD foram subtraídas das correntes médias de pico do branco (eletrólito).

A Figura 15B mostra as respectivas curvas de calibração para as concentrações crescentes e decrescentes de TAD. Como na Figura 15B, ambas as curvas mostraram boa correlação linear entre a concentração de TAD e as correntes de pico anódicas (i_{pa}) na faixa de 1,0 a 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R=0,998$) e a inclinação semelhante (0,191 e 0,194 $\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente), significando que os efeitos de memória foram desprezíveis neste intervalo de concentração.

O limite teórico de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) foram 0,270 e 0,890 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O LOD foi calculado como $3 SD_B / S$ e LOQ como $10 SD_B / S$, em que SD_B é o desvio padrão obtido a partir de dez injeções da solução do branco (eletrólito) e S é a inclinação da curva de calibração (crescente). No entanto, conforme presente na Figura 15A, a menor concentração de TAD detectada (discriminável dos picos de eletrólito) é de 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ que pode ser considerado um valor de LOD mais realista. A frequência analítica estimada a partir do amperograma da Figura 15A foi em torno de 270 h^{-1} , o que é adequado para análises de rotina.

Figura 15 - (A) Amperograma (após correção da linha de base) para injeções do eletrólito (E), das soluções de TAD (a: 0,5; b: 1,0; c: 5,0; d: 10,0; e: 15,0; f: 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e comprimidos diluídos de TAD (s_1 – s_4); (B) respectivas curvas de calibração crescente (preto) e decrescente (cinza). E: tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH 4,0) com 5% (v/v) de DMSO; Volume de injeção: 50 μL ; Vazão: 175 μLs^{-1} . E: +1,3 V.



Fonte: adaptado de Oliveira *et al.*¹⁰⁸ 2020.

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos para a determinação de TAD em quatro comprimidos comerciais (Cialis® e genéricos) por BIA-AD e pelo método UV comparativo¹¹². Como pode ser visto, os valores calculados de $F(F_{\text{calc}})$ foram inferiores ao crítico, demonstrando que o método proposto (BIA-AD) apresenta precisão semelhante quando comparado ao método UV em um nível de confiança de 95%. Para o teste t pareado, o t calculado (t_{calc}) foi inferior ao valor t crítico, confirmando que não houve diferença significativa entre os resultados de ambos os métodos ao nível de

confiança de 95%. Esses resultados demonstram a exatidão do método BIA-AD para determinação de TAD em produtos farmacêuticos.

Tabela 2 - Comparação dos resultados para determinação de TAD em comprimidos por BIA-AD e por espectrofotometria (UV).

Teor de TAD (mg por comprimido)			
Rótulo	BIA-AD^a	UV^a	E (%)^b
20	22,9 (±0,7)	24,8 (±0,8)	-7,7
20	21,4 (±0,2)	22,5 (±0,2)	-4,9
20	20,7 (±0,8)	22,5 (±0,8)	-8,0
20	27,2 (±0,8)	25,8 (±0,8)	+5,4

^aMédia de 4 medições ±SD; ^bE (%) = (método BIA - método UV/método UV) × 100; $F_{\text{calc}} (S_{\text{BIA}}^2/S_{\text{UV}}^2) = 0,248$. Valor crítico F = 0,355 (nível de confiança de 95%; n = 12); $t_{\text{calc}} = 1,796$. Valor crítico t = 2,074 (nível de confiança de 95%; n = 12)

2.3.3 Triagem de TAD puro por BIA-MPAD

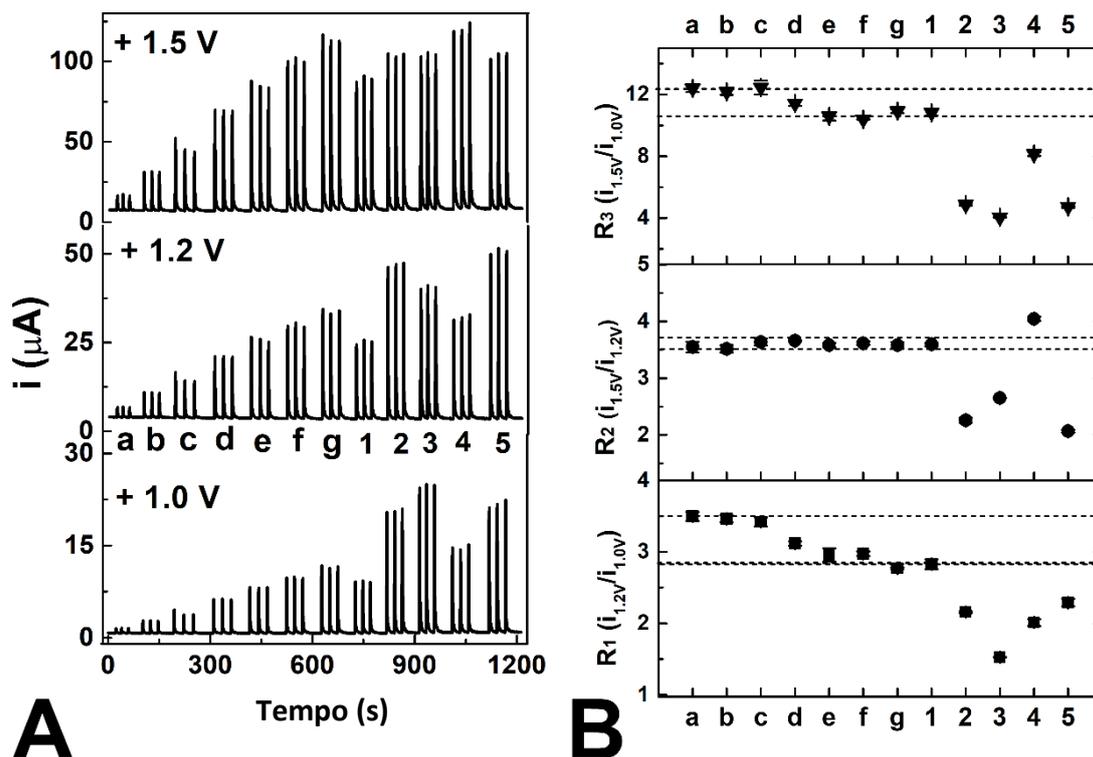
A BIA também pode ser usada como um sistema portátil para a triagem rápida de drogas usando MPAD. Cardozo *et al.*¹³⁰ mostraram que perfis eletroquímicos comparativos de cada formulação podem ser obtidos rapidamente usando razões entre as correntes de pico obtidas com a técnica de amperometria de múltiplos pulsos (MPAD). Tal estratégia permitiu a discriminação entre alguns comprimidos de citrato de sildenafil (Viagra[®], genéricos, contrabandeados e Viagra[®] adulterado). A discriminação de amostra usando as razões entre as correntes de pico da MPAD foi estatisticamente semelhante ao obtido usando voltametria combinada com quimiometria (Análise de Componentes Principais). Uma vez que as formulações de TAD têm um histórico de falsificação em todo o mundo^{4,109–111}, aqui também propomos BIA-MPAD e razões de corrente de pico para a discriminação de formulações contendo TAD de amostras adulteradas. Para simular amostras adulteradas, o Cialis[®] foi misturado no laboratório com outros API (cafeína, dipirona, SC ou paracetamol).

Na Figura 16A são apresentados os amperogramas por BIA-MPAD em três pulsos de potenciais após três injeções de soluções contendo o padrão de TAD em

concentrações na faixa de 5,0 a 150,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a–g), seguido por injeções de soluções de Cialis[®] (1), e Cialis[®] adulterado com (2) cafeína, (3) dipirona, (4) citrato de sildenafil e (5) paracetamol. A Figura 16B apresenta as três razões entre as correntes de pico obtidas nos três amperogramas da Figura 16A ($R_1: i_{pa1.2V}/i_{pa1.0V}$; $R_2: i_{pa1.5V}/i_{pa1.2V}$, $R_3: i_{pa1.5V}/i_{pa1.0V}$). As relações são necessárias para a normalização das correntes de pico, evitando eventuais erros na etapa de preparação da amostra (p.ex. diluição incorreta)¹³⁰.

Como observado na Figura 16B, as correntes de pico das soluções do padrão de TAD apresentam uma dependência direta no intervalo de concentração avaliado (Figura 15A), enquanto as três razões de pico são praticamente constantes, considerando um RSD de 5%. No entanto, correntes de pico e razões muito diferentes foram obtidas em todas as amostras adulteradas (Figura 16B), devido à oxidação simultânea de outros API eletroativos nestes pulsos de potencial. Por outro lado, as razões (R_1 , R_2 e R_3) obtidas para as injeções de solução de Cialis[®] foram as mesmas das soluções padrão de TAD. Este resultado sugere que o comprimido de Cialis[®] contém TAD puro, o que está em consonância com a indicação no rótulo do medicamento[®].

Figura 16 - (A) Amperogramas por BIA-MPA obtidas nos três pulsos de potencial (+1,0, +1,2 e +1,5 V) após injeções em triplicata de soluções com concentrações crescentes de TAD (a – g: 10–150 $\mu\text{mol L}^{-1}$), Cialis[®] (1), Cialis[®] adulterado com cafeína (2), dipirona (3), citrato de sildenafila (4) e paracetamol (5); (B) Respectivas razões médias ($\pm\text{SD}$) entre as correntes de pico (R_1 : $i_{\text{pa}1,2\text{V}}/i_{\text{pa}1,0\text{V}}$; R_2 : $i_{\text{pa}1,5\text{V}}/i_{\text{pa}1,2\text{V}}$, R_3 : $i_{\text{pa}1,5\text{V}}/i_{\text{pa}1,0\text{V}}$). Tempo de pulso: 40 ms; Velocidade de injeção: 70 μLs^{-1} ; Volume de injeção: 75 μL . Eletrólito suporte: Tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH 4,0) com 5% (v/v) de DMSO.



Fonte: adaptado de Oliveira *et al.*¹⁰⁸ 2020.

Portanto, uma simples comparação das proporções atuais pode anunciar se a formulação contém apenas TAD ou composição diferente (por exemplo, TAD adulterado com outro API). Assim, o método BIA-MPAD poderia ser usado como uma etapa preliminar de triagem rápida de amostras (ensaio qualitativo), distinguindo as amostras contendo apenas TAD daquelas com composição química diferente. Assim, apenas as amostras contendo TAD puro seriam quantificadas usando BIA-AD (seção 2.3.2). Tais métodos são promissores para a triagem de TAD puro e sua determinação em produtos farmacêuticos. No entanto, a real eficácia de tais métodos propostos devem ser avaliados em amostras apreendidas.

2.3.4 Proposta de BIA / Amperometria vs Literatura

A Tabela 3 compara algumas figuras de mérito de BIA-AD e outros métodos eletroanalíticos para determinação de TAD em formulações farmacêuticas propostos na literatura. Como mostrado, o valor de LOD obtido pelo sistema proposto não foi tão baixo quanto os obtidos com muitos trabalhos que utilizaram eletrodos modificados. No entanto, tal valor é suficiente para a determinação de TAD na dosagem encontrada em medicamentos comerciais (5 ou 20 mg por comprimido). Entretanto, a faixa linear obtida para TDA com o método BIA proposto foi uma das maiores em comparação com métodos voltamétricos estacionários. Como prova do conceito, a faixa linear do método BIA-AD com o BDD pré-tratado catodicamente foi aproximadamente 120 vezes maior em comparação com um método estacionário com detecção por VOQ empregando o mesmo eletrodo¹¹⁹.

Este resultado destaca a capacidade de sistemas hidrodinâmicos em minimizar a adsorção no eletrodo, devido ao menor tempo de contato entre o agente passivante (analito ou seus produtos de oxidação) e o eletrodo de trabalho¹³¹. Os dois métodos BIA propostos (MPAD e AD) são mais versáteis (investigação qualitativa de pureza de TAD e determinação de TAD puro), mais simples (não requer procedimentos complexos para modificação de eletrodos) e apresenta a maior frequência analítica (270 injeções por hora) em comparação com outros métodos eletroanalíticos relatados para TAD, resultado da alta velocidade do transporte de massa hidrodinâmico (BIA) e da oxidação instantânea de TAD sobre a superfície H-BDD (detecção amperométrica).

Tabela 3 - Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de tadalafila por BIA-AD e outros métodos eletroquímicos da literatura.

Técnica (eletrodo)	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ^a ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Frequência analítica (h^{-1}) ^b	Referência
HPLC-PAD (Au)	2,6–179,8	0,59	4*	Muratt <i>et al.</i> ¹³² (2018)
AdSSWV (TiO ₂ -MWCNTP)	0,3–15,2	0,08	n.m.**	Demir <i>et al.</i> ¹²⁰ (2014)
VPD (SCX6@RGO/GCE)	0,1–50,0/ 50,0–1000,0	0,05	n.m.**	Zhao <i>et al.</i> ¹²² (2017)
VOQ (BDD)	0,2–1,3	0,02	n.m.**	Sartori <i>et al.</i> ¹¹⁹ (2017)
VPD (Pt/NPGR-120/GC)	130,0–489,0	0,27	n.m.**	Salah <i>et al.</i> ¹³³ (2018)
LSASV (3DG/GCE)	0,1–25,0	0,01	n.m.**	Xin <i>et al.</i> ¹³⁴ (2019)
BIA-AD	1,0–150,0	0,27	270	Este trabalho

^aLOD: limite de detecção, calculado como três vezes o desvio padrão da solução em branco dividido pela inclinação da curva de calibração (sensibilidade); ^bFrequência Analítica: Número de injeções por hora. *Os valores de frequência analítica para métodos de HPLC foram obtidos com base no tempo de retenção. **n.m.: não mencionado. Técnicas eletroquímicas: PAD: Detecção Amperométrica Pulsada; AdSSWV: Voltametria de onda quadrada de redissolução adsortiva; VPD: Voltametria de pulso diferencial; VOQ: Voltametria de onda quadrada. LSASV: Voltametria de varredura linear por redissolução adsortiva. BIA-AD: Análise de Injeção em batelada com detecção amperométrica. Eletrodos de trabalho: Au: ouro; TiO₂-MWCNTP: Pasta de nanotubos de carbono de paredes múltiplas modificada com TiO₂. SCX6@RGO/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com p-sulfonatedcalix[6]areno; Pt/NPGR-120/GCE: Carbono vítreo modificado com nanopartículas de Pt ancoradas em poros dopados com nitrogênio. 3DG/GCE: GCE modificado com grafeno diretamente tridimensional.

2.4 Conclusões

Neste trabalho demonstrou-se o uso de um eletrodo BDD acoplado a célula BIA de baixo custo impressa em 3D para o desenvolvimento de dois novos métodos amperométricos, o primeiro para determinação de TAD e o segundo para triagem de TAD puro em produtos farmacêuticos. Na primeira metodologia, o BIA-AD foi explorado para a determinação de TAD em comprimidos farmacêuticos comercializados (Cialis[®] e genéricos). Sob condições otimizadas, o sistema apresentou LOD e linearidade adequados, bem como a maior frequência analítica da literatura com

precisão semelhante de um método espectrofotométrico a um nível de confiança de 95%. No segundo, o Cialis® (contendo apenas TAD) e o Cialis® adulterado foram discriminados apenas pela comparação entre as relações entre as correntes de pico obtidas dos amperogramas em três níveis de potencial. Além disso, o sistema BIA é mais simples, rápido, barato e portátil do que os protocolos analíticos por HPLC, normalmente preteridos para análises de rotina em laboratórios farmacêuticos e forenses.

2.5. Perspectivas

Embora o sucesso da célula BIA impressa em 3D e do método BIA-AD, este é um sistema adequado para triagem e determinação de tadalafila pura para um grande conjunto de amostras como, por exemplo, na indústria farmacêutica para fins de controle de qualidade devido à sua elevada frequência analítica. Entretanto, pensando na realidade do perito forense que faz análise em campo, um sistema menor e mais prático e que não requeira tratamento de amostra (por exemplo dissolução ou diluição) é muito mais prático e atraente. Assim, no capítulo III apresentamos o desenvolvimento de uma célula eletroquímica impressa em 3D miniaturizada, prática, de baixo custo e compatível com vários eletrodos de trabalho planares, além de um protocolo rápido e prático para triagens diretas de comprimidos de interesse forense com detecção eletroquímica.

Capítulo III: Uma célula eletroquímica impressa em 3D prática, portátil e compatível com vários eletrodos: um estudo para amostragem direta de drogas sólidas e triagens voltamétricas

Uma célula eletroquímica impressa em 3D prática, portátil e compatível com vários eletrodos: um estudo para amostragem direta de drogas sólidas e triagens voltamétricas

Essa metodologia contém uma adaptação do artigo publicado intitulado “Multi sensor compatible 3D-printed electrochemical cell for voltammetric drug screening”, de autoria de Priscila Alves Ferreira, Fabiano Mendonça de Oliveira, Edmar Isaias de Melo, Adriana Evaristo de Carvalho, Bruno Gabriel Lucca, Valdir Souza Ferreira, Rodrigo Amorim Bezerra da Silva. Disponível online DOI 10.1016/j.aca.2021.338568.

3.1 Introdução

A impressão tridimensional (3D) ou tecnologia de manufatura aditiva é uma tecnologia emergente que tem criado novos caminhos no desenvolvimento de objetos personalizados em muitas áreas, como alimentos, engenharia, medicina, eletrônica, indústria e ciência. A modelagem por deposição fundida (FDM) tem sido a tecnologia de impressão 3D preferida, devido aos custos acessíveis das impressoras e filamentos poliméricos e fácil acesso a softwares de código aberto.

Recentemente as canetas 3D foram propostas como um instrumento alternativo às impressoras 3D para fabricação de eletrodos^{112,113}. Apesar das canetas 3D funcionarem por um mecanismo semelhante ao das impressoras 3D FDM, a impressão em uma caneta 3D é uma operação artesanal, não automatizada como nas impressoras 3D. Assim, para obter boa reprodutibilidade de fabricação, a caneta 3D deve extrudar o filamento condutor em moldes do mesmo tamanho. Além disso, uma vez que a operação da caneta 3D não é contínua (camada por camada) como nas impressoras 3D, ela pode ser usada para depositar filamentos condutores sobre modelos previamente cobertos com materiais coesivos (por exemplo, cola ou resina epóxi), resultando em uma adesão mais simples entre duas superfícies diferentes. Esta estratégia simples foi usada para melhorar a adesão entre o compósito impresso em caneta 3D condutor (eletrodo) e uma placa fenólica (substrato não impresso em 3D)¹¹². A caneta 3D também foi usada para extrudar filamentos condutores em impressões 3D personalizadas^{113–115}.

Os filamentos condutores mais usados para impressão 3D FDM de sensores eletroquímicos são Blackmagic® (Gr-PLA) e Protopasta® (CB-PLA). No entanto, a cinética de transferência de elétrons desses materiais quando usados sem tratamento

ainda é baixa devido à baixa condutividade elétrica¹¹⁶, em função da baixa proporção de partículas condutoras na mistura polimérica (<20% p / p)⁵⁹. Assim, para melhorar as propriedades eletroquímicas, a superfície do eletrodo deve ser tratada previamente⁶⁹. Apesar de tais tratamentos melhorarem o desempenho eletroquímico em comparação com a superfície original, as propriedades de transferência de elétrons dos eletrodos impressos em 3D tratados podem ser ainda mais baixas em comparação com outros eletrodos de carbono (por exemplo, carbono vítreo ou diamante dopado com boro).

Assim, espera-se que em um futuro próximo alguns filamentos condutores possam estar disponíveis no mercado para imprimir eletrodos que podem ser usados sem etapas de tratamentos, com desempenho comparável aos eletrodos de trabalho tradicionais. Portanto, o desafio é desenvolver um material em que a proporção de partículas condutoras e matriz polimérica seja ideal para obter o melhor compromisso entre a condutividade elétrica e a capacidade de impressão. Até o momento, a associação de impressão 3D com distintos instrumentos (impressoras e canetas) para fabricar células personalizadas adaptáveis a qualquer eletrodo de trabalho é uma possibilidade empolgante na eletroquímica atual.

Assim, neste trabalho é proposta uma nova célula eletroquímica impressa em 3D compatível com vários sensores (3D-MSEC) e de fácil manuseio. O dispositivo é composto por três peças independentes impressas em ABS facilmente rosqueável: bastão, tampa (contendo os eletrodos de referência e contra eletrodos de CB-PLA extrusados por caneta 3D) e um recipiente para solução. Esta célula é pequena, prática, requer menores volumes de eletrólitos do que a maioria das células impressas em 3D relatadas na literatura e pode ser montada com qualquer eletrodo de trabalho em forma de placa (comercial ou impresso em 3D). Além disso, um protocolo alternativo para produzir eletrodos de trabalho impressos em 3D usando apenas uma caneta 3D e um molde é proposto. O desempenho eletroquímico de cada sensor avaliado (diamante dopado com boro, folha de grafite e CB-PLA) é comparado por detecção voltamétrica da sonda redox de ferricianeto, paracetamol e cafeína. As aplicações analíticas do 3D-MSEC são demonstradas por meio da amostragem direta de medicamentos em pó (com histórico de falsificação ou adulteração) seguida por detecção voltamétrica rápida usando sensores flexíveis e de baixo custo. E a determinação de 17 α -etinilestradiol em uma pílula anticoncepcional pelo método de adição padrão.

3.2 Metodologia

3.2.1 Reagentes, amostras e soluções

As soluções foram preparadas em água deionizada (resistividade superior a 18 MΩ cm) a partir de um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore) e com reagentes de grau analítico. Os reagentes ácido fosfórico (85% m/m), ácido bórico (99% m/m), ácido acético (99% m/m), etanol, cloreto de potássio, hidróxido de sódio, ferricianeto de potássio (III), ferrocianeto de potássio (II) foram adquiridos da Synth[®]. Os padrões de paracetamol, cafeína, citrato de sildenafil (SC), tadalafila (TAD), losartana potássica (LOS) e 17 α -etinilestradiol (EE2) foram adquiridos da Sigma Aldrich[®]. As amostras farmacêuticas de SC 50 mg (Viagra[®], Pfizer), TAD 20 mg (Genérico, Medley), LOS 50 mg (Genérico, Teuto) e EE2 0,05 mg (Neovlar[®], Bayer) foram adquiridas em farmácias locais. Dois comprimidos de cada amostra foram pesados, pulverizados em almofariz de ágata e armazenados em frasco escuro. Para os experimentos quantitativos, a solução estoque de amostra de EE2 foi preparada no dia por dissolução de EE2 em etanol seguida de diluição adequada em tampão Britton-Robinson (BR) (pH 8,0).

3.2.2 Instrumentação

As medidas por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês “electrochemical impedance spectroscopy”) foram realizadas em um potenciostato/galvanostato/EIS pocketSTAT portátil (Ivium[®]) controlado pelo software IviumSoft[®] e usando a célula proposta. As demais medidas foram conduzidas em um potenciostato/galvanostato μ Autolab III (Metrohm[®]) interfaceado com software NOVA 2.1. Os eletrodos de diamante dopado com boro (BDD), folha de grafite (GS) e o compósito CB-PLA impresso com caneta 3D foram usados como eletrodos de trabalho (Seção 3.2.4). Dois CB-PLA impressos com caneta 3D na tampa da célula foram usados como eletrodos de pseudo-referência e auxiliar (Seção 3.2.3). Para fins de comparação, um ER de Ag|AgCl|KCl_{sat.} e um fio Pt foram usados como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente.

Foi utilizado um pHmetro Ion modelo pHB 500 em conjunto com um agitador magnético IKA Color para ajustar o pH dos eletrólitos. Para dissolução dos padrões foi utilizado um aparelho ultrassom UltraCleaner US-800 (Unique[®]). A pesagem dos padrões e amostras foram realizadas em uma balança analítica de quatro casas decimais

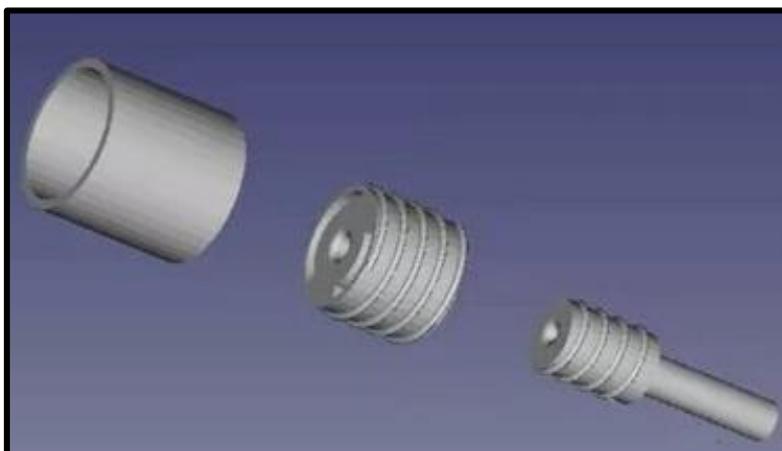
modelo M214Ai (BEL Engineering®). Para transferir os volumes para a célula eletroquímica foram utilizadas micropipetas manuais Labmate Soft e uma micropipeta eletrônica Eppendorf.

As medidas por EIS foram realizadas utilizando os seguintes parâmetros: faixa de frequência entre 1 Hz a 50 kHz, amplitude de 10 mV, 10 pontos de dados por década de frequência e aplicação de tensão AC correspondente ao potencial de meia onda. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (SEM) foram adquiridas pelo instrumento Tescan (Vega 3).

3.2.3 Projeto e fabricação da 3D-MSEC

As três partes (tampa, bastão e reservatório de solução) da célula eletroquímica impressa em 3D compatível com vários sensores (3D-MSEC) foram modeladas independentemente no software de código aberto FreeCad® e convertidos no modelo de linguagem padrão, arquivo .STL (Figura 17). Posteriormente, cada objeto foi fatiado pelo software Simplify3D® (Cincinnati, EUA) e convertido para G-Code, a extensão de arquivo usada para controlar a impressora 3D FDM (Creality Ender-3). A célula foi impressa utilizando o filamento ABS (Slim 3D®), no qual foram utilizados os seguintes parâmetros de impressão: temperatura do bico 225°C, temperatura do leito 105 °C, velocidade de impressão 35 mm s⁻¹, altura da camada 0,05 mm e preenchimento de 100%.

Figura 17 – Projeto de fabricação da 3D-MSEC (formato .STL) usando o software de código aberto FreeCad®.



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

A 3D-MSEC é mostrada na Figura 18, e o processo de construção da célula no esquema da Figura 18A. A célula consiste em três peças impressas em 3D usando ABS: bastão (Ia), tampa (IIa) e reservatório de solução (III). O bastão contém uma cabeça externa rosqueável e um canal interno (Ia), adequado para a inserção de um fio de cobre flexível previamente soldado a uma placa redonda de metal (Ib). A tampa contém parafusos nas paredes interna e externa, bem como um orifício central e duas cavidades (moldes) na parte superior (IIa) da tampa. Cada cavidade possui um pequeno orifício para a inserção de um fio de cobre fino e flexível (IIb), que depois foi preenchido com o filamento condutor extrusado pela caneta 3D (Kuman, Shenzhen, China) (IIc).

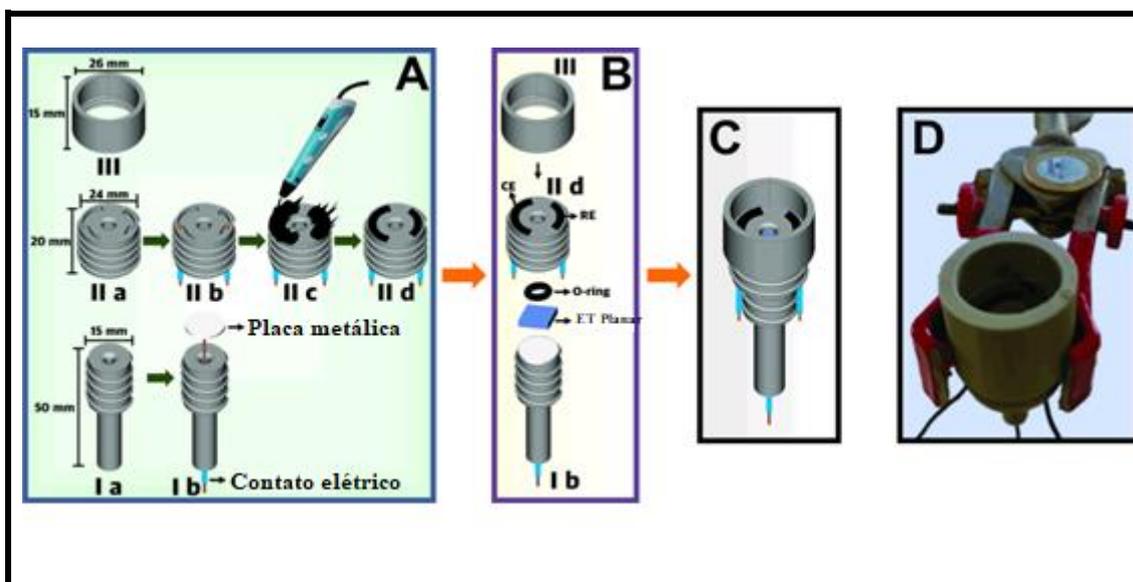
Esta etapa levou menos de 1 minuto, uma vez que o filamento foi rapidamente extrusado utilizando a velocidade máxima de impressão da caneta (temperatura do bico de 210 °C) e solidificado em temperatura ambiente (em torno de 25 °C). Antes da deposição, as bordas das cavidades foram recobertas com um pouco de resina epóxi (Araldite® Hobby, Teakbond) para melhorar a adesão entre os dois polímeros (CB-PLA e ABS). Após 10 minutos (cura do epóxi), o plástico sobressalente na superfície foi removido com uma lixa (granulação 80) embutida em uma ponta giratória proveniente do micro retífica (Einhell® BT-MG 135). Em seguida, a superfície da cobertura foi polida manualmente com lixas mais macias (granulação 400 e 1200 respectivamente) na presença de água deionizada (IIId).

Conforme mostrado na Figura 18B, cada componente (Ib, IIId e III) é facilmente montado rosqueando uma peça sobre a outra. No entanto, o eletrodo de trabalho planar (por exemplo, BDD, GS ou CB-PLA) deve ser colocado entre a placa metálica (contato elétrico com o potenciostato) e um anel de borracha ($\varnothing_i = 0,5$ cm), que define a área de superfície ($\approx 0,20$ cm²) e evita o vazamento da solução do eletrólito. A imagem ampliada da célula 3D-MSEC, detalhando o posicionamento de ambos os eletrodos CB-PLA (CE e PRE) na tampa da célula bem como o eletrodo de trabalho planar imobilizado e os respectivos contatos elétricos são mostrados na Figura 18B. Um esquema e uma imagem real da célula montada são mostradas nas Figuras 18C e 18D, respectivamente.

Esta célula impressa em 3D deve ser usada várias vezes para medições eletroquímicas em eletrólitos aquosos e pode ser lavada (montada ou desmontada) com água e etanol comercial (50-70 % m/m). Este enxágue é necessário se picos voltamétricos inesperados aparecerem em medições voltamétricas de soluções em branco. A célula é barata (US\$ 0,30), pequena, impressa rapidamente (90 min),

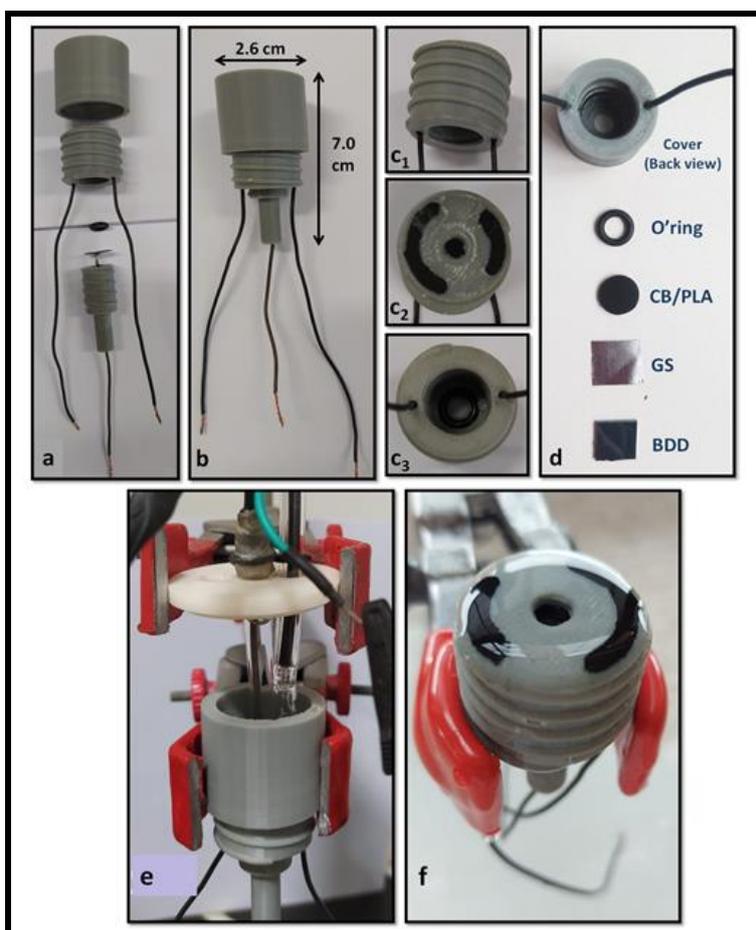
compatível com qualquer eletrodo de trabalho em formato de placa e requer baixos volumes de eletrólito para medições eletroquímicas (0,5 - 3,0 mL). Outras imagens adicionais da 3D-MSEC são apresentadas na Figura 19.

Figura 18 - (A) Representação esquemática do processo de construção da 3D-MSEC, mostrando cada peça impressa em 3D : bastão antes (I a) e depois (I b) da inserção de um fio de cobre soldado à placa metálica (contato elétrico); (II a) tampa com cavidades e orifícios, após (II b) inserção dos fios de cobre nos orifícios, (II c) deposição do filamento condutor com a caneta 3D e (II d) polimento mecânico e ativação eletroquímica; (III) Recipiente de solução. (B) Esquema da 3D-MSEC desmontada I b, II d, III com O'ring de borracha e eletrodo de trabalho plano e (C) célula totalmente montada. (D) Imagem real da 3D-MSEC sustentada por um suporte universal (tamanho comparado a uma moeda de R\$ 1,00).



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

Figura 19 - Fotos complementares da 3D-MSEC com os três componentes (bastão, tampa e recipiente) desmontados (A) e montados (B); vistas da tampa: vista lateral (c1), superior (c2) e interna com O’ring encaixado (c3); (D) Tampa (vista interna), O’ring e os eletrodos de trabalho (CB-PLA, GS e BDD); (E) Arranjo opcional da 3D-MSEC com RE comercial (Ag|AgCl|KCl) e CE (Pt); (F) Disposição para triagem de drogas após a adição de solução (500 μ L) sobre a tampa.



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

3.2.4 Eletrodos de trabalho avaliados na 3D-MSEC

Três eletrodos de trabalho planares foram montados individualmente na 3D-MSEC: diamante dopado com boro (BDD), folha de grafite (GS) ou o compósito de carbon black-ácido polilático impresso em caneta 3D (CB-PLA). A GS foi obtida cortando um pequeno pedaço (1 x 1 cm) de GS comercial (Panasonic[®], 70 μ m de espessura) adquirida na Mouser Electronics (Mansfield, Texas). De acordo com o fabricante o conteúdo de grafite na GS é superior a 99% (m/m). O BDD foi adquirido da Neocoat[®] (La Chaux-de-Fonds, Suíça) em formatos de placa (1 x 1 cm) que consiste em um filme espesso de BDD (nível de dopagem de 8000 ppm) sobre um substrato de

silício policristalino, que contém um filme de ouro na parte de trás para melhorar o contato elétrico. Antes das medidas eletroquímicas o BDD foi submetido ao tratamento anódico (+1,5 V por 150 s) seguido do catódico (-3,0 V por 300 s) em H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} , para remover incrustações, impurezas adsorvidas e funcionalizar a superfície com grupos funcionais. Além disso, a ativação anódica introduz grupos funcionais com oxigênio na superfície do BDD e já ativação catódica provoca a hidrogenação superficial do eletrodo¹³⁵.

O eletrodo CB-PLA foi fabricado artesanalmente em formato circular usando caneta 3D e outros instrumentos simples (Figura 20). Um disco de policarbonato, obtido após a remoção de um filme metálico (por polimento com lixa 80) de um antigo disco compacto gravável (CD-R) foi perfurado com uma micro retífica elétrica (Einhell® BT-MG 135) equipada com uma broca com diâmetro de 0,8 cm (Figura 19A). Cada orifício é um molde para criar eletrodos no padrão dimensional desejado. Conforme mostrado (Figura 20A), muitos moldes podem ser perfurados em um mesmo CD, permitindo a confecção rápida de um conjunto de eletrodos de trabalho (oito nesse esquema).

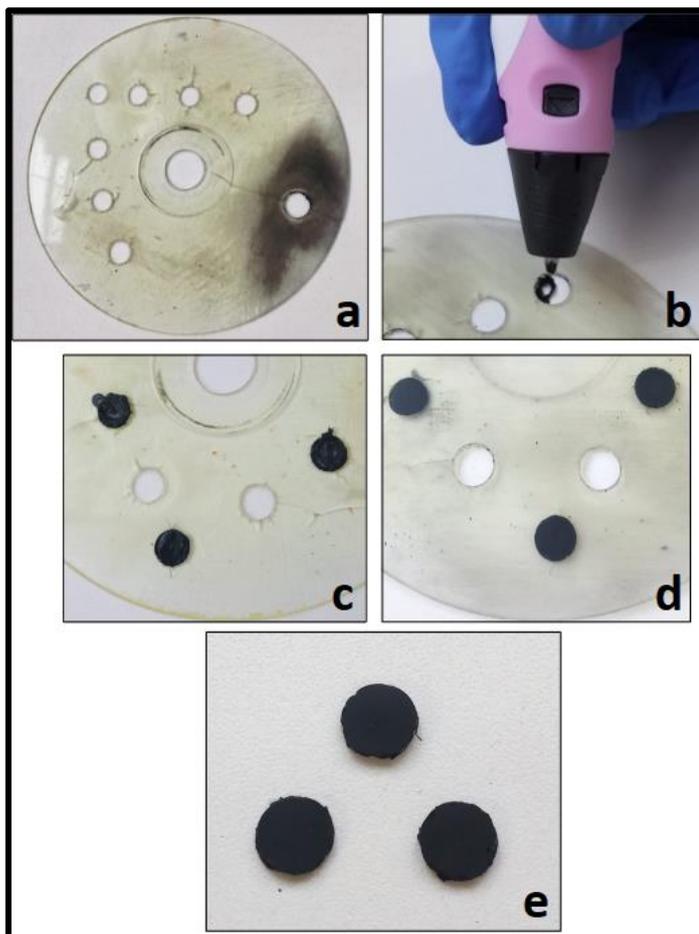
Assim, cada orifício foi preenchido com o filamento condutor CB-PLA (Protopasta®, Protoplant, Washington, EUA) extrusado pela caneta 3D usando uma temperatura de bico de 210°C e mínimo velocidade de dispensação (Figura 20B) e prontamente pressionado usando uma espátula rígida para evitar a formação de pequenas cavidades entre o compósito e as bordas de policarbonato. Como mostrado na Figura 20C, o compósito extrusado pela caneta 3D exibe superfícies irregulares. Assim, o plástico sobressalente de ambas as superfícies (frente e verso) foi lixado (granulação 80) com a micro retífica seguido de polimento manual com lixas d'água na granulação 400 e 2000, respectivamente (Figura 20D). Finalmente, cada tarugo de CB-PLA (diâmetro: 0,8 cm; espessura: 0,1 cm) foi removido manualmente (Figura 20E) e fixado na 3D-MSEC. A área geométrica (0,196 cm^2) foi definida pelo O'ring de borracha ($\varnothing_i = 0,5$ cm).

Esse protocolo de fabricação alternativo é mais portátil, mais rápido, mais simples e consome menos filamento do que o método usual com impressoras 3D. Antes das medidas eletroquímicas esse sensor necessita ser submetido ao polimento mecânico e ativação eletroquímica (+1,4 V / 200 s e -1,0 V / 200 s em 0,5 mol L^{-1} NaOH) para expor as partículas condutoras de CB para melhorar a cinética de transferência de elétrons e diminuir a resistividade^{59,69,91,136}. Essa ativação também foi realizada no CE e PRE da tampa apenas uma vez antes da primeira medição eletroquímica. Neste caso, foi

realizado um curto-circuito entre os dois fios e depois conectado com o cabo (ER) do potenciostato. Em todas as ativações eletroquímicas do CB-PLA foram utilizados eletrodos comerciais de referência ($\text{Ag|AgCl|KCl}_{\text{sat.}}$) e auxiliar (fio de Pt).

Para comparar a reprodutibilidade de fabricação deste protocolo alternativo (caneta 3D), cinco eletrodos de trabalho CB-PLA (forma circular com a mesma dimensão) foram impressos usando uma impressora 3D (Creality Ender-3, Shenzhen, China) usando os seguintes parâmetros: diâmetro do bico 0,4 mm a 210°C; temperatura do leito 55°C; velocidade de impressão 30 mm s⁻¹; altura da primeira camada de 0,2 mm; e orientação de impressão vertical⁶⁹. Esse CB-PLA em forma circular foi montado na célula e tratado exatamente como o eletrodo impresso em caneta 3D.

Figura 20 - Imagens das etapas de construção dos eletrodos CB-PLA impressos com caneta 3D: (A) Perfuração do policarbonato (moldes padronizados); (B) extrusão do filamento condutor com a caneta 3D nos moldes; (C) CB-PLA depositado; (D) CB-PLA após polimento superficial (lixamento manual); (E) Tarugos removidos prontos para serem montados na 3D-MSEC.

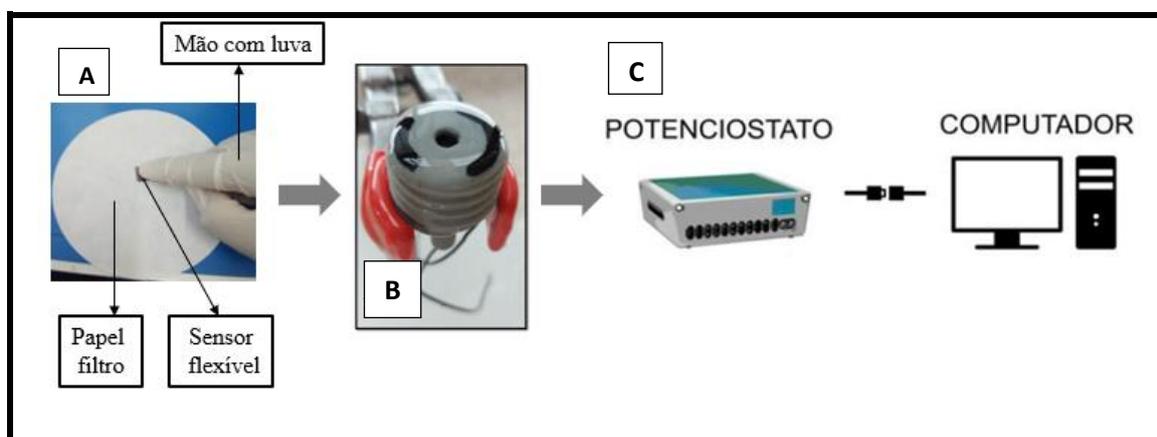


Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

3.2.5 Amostragem de drogas sólidas e detecção eletroquímica na mesma plataforma

A Figura 21 mostra o procedimento de fricção realizado, no qual o pó de cada droga (peso $\pm 0,7$ mg para padrões, <13 mg para amostras SC, TAD e LOS e 1,3 g para amostra EE2) foi espalhado sobre um papel filtro ($\varnothing = 12,5$ cm). Em seguida, o pó foi amostrado de forma abrasiva (sem diluição) sobre o sensor flexível e de baixo custo (GS ou CB-PLA impresso em caneta 3D) por meio de movimentos circulares com as mãos enluvadas por 10 segundos. Os brancos foram realizados com o mesmo procedimento, porém com papel filtro limpo (superfície não contaminada com pó do fármaco). Após a coleta o sensor foi montado na 3D-MSEC e 500 μ L do eletrólito suporte foram adicionados sobre a tampa para realização da detecção eletroquímica.

Figura 21 - Procedimento adotado para a amostragem no sólido de cada droga usando os sensores flexíveis: abrasão entre o sensor e a droga no papel filtro (A), sensor montado na 3D-MSEC (B) e por último a medida eletroquímica (C).



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

Assim, para essa triagem de drogas o recipiente de solução é dispensável (Figura 19F), uma vez que o volume de eletrólito necessário para manter o contato com os três eletrodos (ET, CE e PRE) é baixo. Toda a detecção eletroquímica foi realizada por voltametria de onda quadrada (VOQ) usando eletrodos flexíveis de baixo custo (GS ou CB-PLA). Antes da amostragem, cada eletrodo CB-PLA impresso com caneta 3D foi polido mecanicamente e ativado eletroquimicamente e o GS foi usado como recebido, como descrito na seção 3.2.4. Os parâmetros VOQ e eletrólitos suporte para cada analito são os seguintes: LOS: $f = 20$ Hz, $E_a = 30$ mV, $E_s = 9$ mV e tampão BR pH

9,0¹³⁷; SC: $f = 20$ Hz, $E_a = 30$ mV, $E_s = 9$ mV e tampão BR pH 4,0¹³⁸; TAD: $f = 30$ Hz, $E_a = 20$ mV, $E_s = 10$ mV e tampão BR pH 4,0¹⁰⁸; EE2: $f = 30$ Hz, $E_a = 40$ mV, $E_s = 5$ mV e tampão BR pH 8,0¹³⁹.

3.3 Resultados e discussões

3.3.1 Caracterização superficial dos eletrodos de trabalho utilizados na 3D-MSEC

A Figura 22A apresenta a vista superior da 3D-MSEC montada com os respectivos eletrodos BDD, GS ou CB-PLA impresso com caneta 3D. A imagem permite observar dois CB-PLA embutidos na tampa atuando como pseudo-referência (PRE) e contra eletrodo (CE). O aspecto das superfícies dos três eletrodos de trabalho (ET) é visivelmente diferente a olho nu (Figura 22A) e também por MEV (Figura 22B).

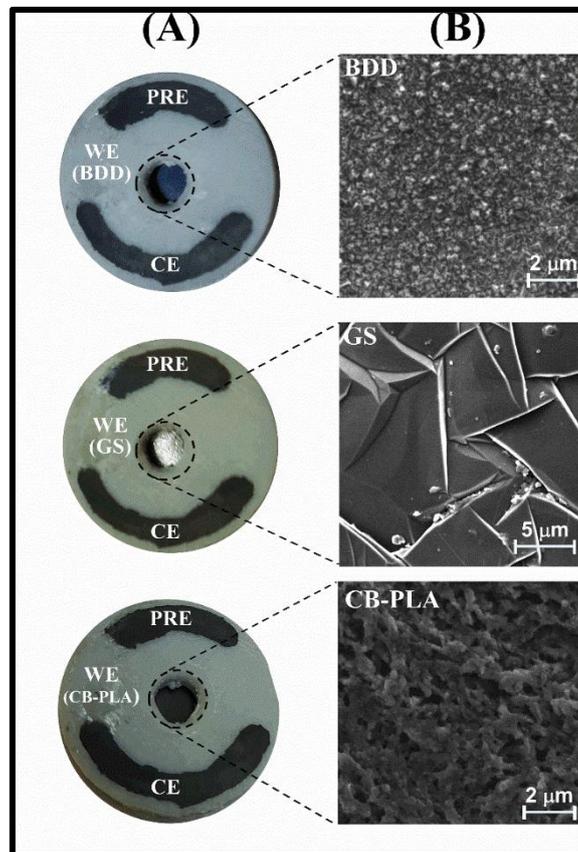
Para BDD foi registrada uma morfologia regular da estrutura piramidal (Figura 22B), que se refere ao crescimento texturizado ao longo da direção dos planos. Além disso, a deposição química a vapor formou um filme fino contínuo ao longo da superfície do substrato¹⁴⁰.

A micrografia revelou que a superfície do GS (Figura 22B) é constituída de partículas de grafite em contato próximo com as folhas de grafite adjacentes aos planos basais¹⁴¹. Além disso, nota-se uma superfície brilhante de GS (Figura 22A), o que evidencia a presença de alto teor de grafite na composição. Esse fato corrobora com o teor de 99% de grafite na composição da folha comercial indicado pelo fabricante.

A imagem MEV do CB-PLA foi registrada após o polimento e ativação eletroquímica (EA) (Figura 22B). Foi observada uma superfície porosa contendo algumas partículas de CB parcialmente presas na matriz de PLA. No entanto, se nenhuma EA for realizada, poucas partículas CB estarão disponíveis na superfície do eletrodo, visto que todas as partículas condutoras estão cobertas por PLA, diminuindo o desempenho do eletrodo, conforme relatado anteriormente^{54,59,69,136}.

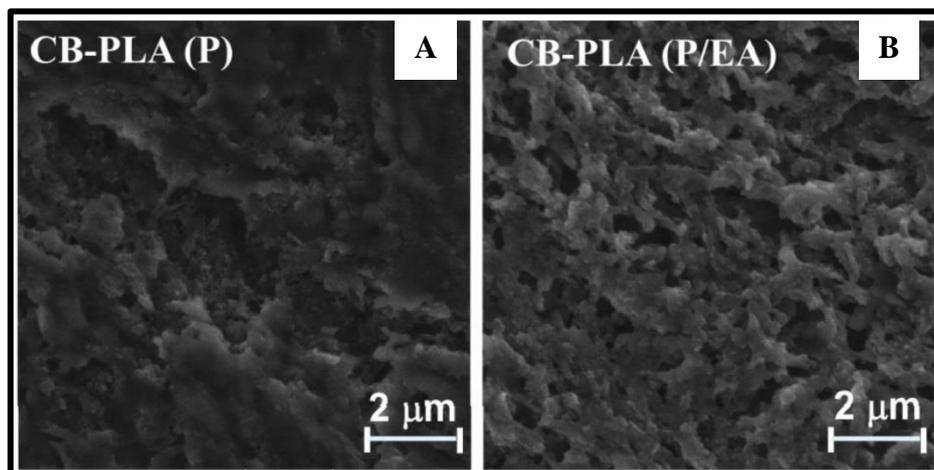
Na Figura 23 são apresentadas imagens por MEV comparativas do CB-PLA com polimento manual (P) e CB-PLA com polimento manual seguido de ativação eletroquímica (P/EA). É possível observar que somente o polimento manual (Figura 23A) não remove o PLA superficial, mas esse procedimento é imprescindível para homogeneizar a superfície do tarugo após a impressão com a caneta 3D. A Figura 23B mostra que polimento e a ativação eletroquímica fornece uma superfície mais porosa, devido ao aumento da exposição das partículas condutoras de “carbon black” (CB)^{69,91}.

Figura 22 - Vista superior da 3D-MSEC com diferentes eletrodos de trabalho planares (BDD, GS ou CB-PLA impresso com caneta 3D e dois CB-PLA na tampa atuando como PRE e CE (A) com zoom na superfície de cada ET para ilustrar as respectivas imagens obtidas por MEV (B).



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

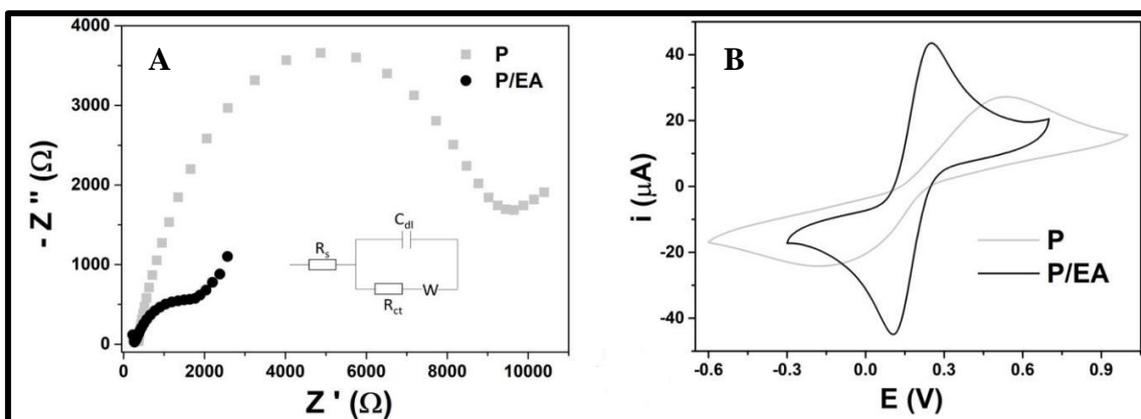
Figura 23 – Comparação entre os eletrodos CB-PLA após polimento (P) e após polimento mais ativação eletroquímica (P/EA) por MEV.



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

Na Figura 24 são apresentadas as caracterizações eletroquímicas do CB-PLA submetido apenas ao polimento (P) e polimento seguido de ativação eletroquímica (P/EA). A Figura 24A apresenta os resultados de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) na presença de sonda redox ferro/ferricianeto para ambas as condições, na qual pode-se observar que o eletrodo tratado apenas com polimento apresenta uma maior resistência a transferência de carga (semicírculo maior). Estes resultados corroboram com os voltamogramas cíclicos na presença de sonda redox ferri/ferro (Figura 24B), na qual pode-se observar que o P/EA melhorou o desempenho eletroquímico do eletrodo, devido à remoção parcial do PLA isolante da superfície, expondo o CB condutor (Figura 23B). Por isso, o CB-PLA utilizado no decorrer desse trabalho foi submetido ao P/EA antes das medidas.

Figura 24 – Comparação entre os eletrodos CB-PLA após polimento (P) e após polimento e ativação eletroquímica (P/EA) por EIS (A) e por voltametria cíclica (B). Condições (A, B): 1:1 mmol L⁻¹ K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ em KCl 0,10 mol L⁻¹; (A) Faixa de frequência = 0,001 a 50 kHz, Amplitude = 10 mV, Pontos por década = 10; (B) $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, AE: + 1,4 V/200 s e - 1,0V/200 s em NaOH 0,5 mol L⁻¹.



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

3.3.2 Desempenho eletroquímico da 3D-MSEC e eletrodos de trabalhos avaliados na presença de substâncias eletroativas modelo

Para investigar o desempenho da 3D-MSEC como dispositivo eletroquímico para triagem de medicamentos suspeitos é necessário estudar a configuração proposta na célula tal como o CB-PLA, construído com filamento comercial e a caneta 3D, atuando como PRE e CE. Na literatura estão disponíveis vários trabalhos envolvendo o uso de PRE em dispositivos eletroquímicos. O PRE difere do RE devido à ausência da solução salina no PRE e de um equilíbrio químico definido. Todavia, um bom PRE

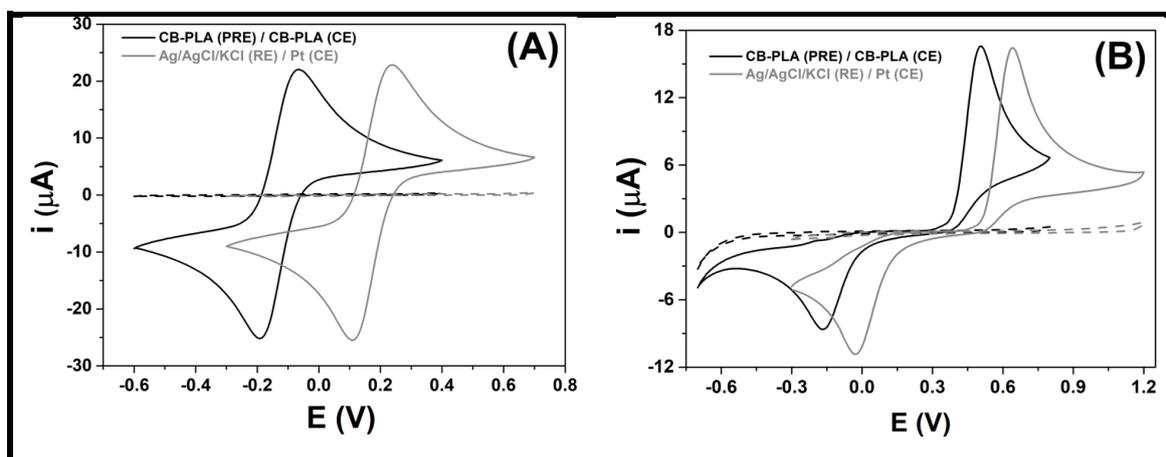
deve controlar o potencial no ET por um certo intervalo de tempo e de modo reprodutível, assim como ao observado em um RE¹⁴². Um RE muito utilizado nos estudos eletroquímicos é o Ag|AgCl|KCl_{sat.}, sendo empregado nesse trabalho para avaliar o desempenho eletroquímico do PRE confeccionado com CB-PLA.

O desempenho da 3D-MSEC foi investigada inicialmente comparando as respostas por voltametria cíclica (VC) de analitos modelo (ferricianeto de potássio e paracetamol) sobre o BDD, visto que esse eletrodo possui comportamento bem estabelecido na literatura. Nestes estudos foram utilizados dois conjuntos de eletrodos de referência e contra eletrodo: dois CB-PLA da tampa da célula ou comerciais (Ag|AgCl|KCl_{sat.} e fio de Pt). As curvas voltamétricas obtidas no BDD na presença de solução de ferricianeto de potássio 1,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,10 mol L⁻¹ e de solução de paracetamol 0,20 mmol L⁻¹ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,70) usando cada conjunto de eletrodos são apresentadas na Figura 25.

Conforme observado, os potenciais de pico (E_p) no eletrodo PRE/CE da tampa (CB-PLA) apresentaram um deslocamento de aproximadamente 300 mV no sentido negativo em comparação com o RE/CE externo (Figura 25A), enquanto que um deslocamento de 150 mV foi observado para o paracetamol em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ pH 4,70 (Figura 25B). Em ambas as medidas o PRE deslocou os sinais do paracetamol e do ferricianeto na direção negativa^{59,90}. O valor do deslocamento do potencial de pico é variável, dependendo do pH e da força iônica do eletrólito de suporte⁵⁹.

No entanto, usando ambos os conjuntos, CB-PLA da tampa ou externo, os valores de potencial de pico, bem como a razão das correntes de pico anódica e catódica (i_{pa}/i_{pc}) foram mantidos. Para ambos os conjuntos de eletrodos a separação de pico do ferri foi de ΔE_p : 105 mV e $I_{pa}/I_{pc} \approx 1$ e para o paracetamol ΔE_p : 670 mV e $I_{pa}/I_{pc} = 1,6$. Esse resultado indica o bom desempenho do CB-PLA atuando como CE e PRE na 3D-MSEC.

Figura 25 - Voltamogramas cíclicos obtidos com BDD usando PRE e CE da tampa da célula (CB-PLA) e os eletrodos comerciais fio de Pt e Ag|AgCl|KCl_{sat.} na presença de 1,0 mmol L⁻¹ de ferricianeto de potássio (A) e 0,20 mmol L⁻¹ de paracetamol (B). Eletrólitos: (A) KCl 0,10 mol L⁻¹ e (B) Tampão de acetato 0,10 mol L⁻¹ (pH 4,70). As linhas tracejadas correspondem aos respectivos brancos. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

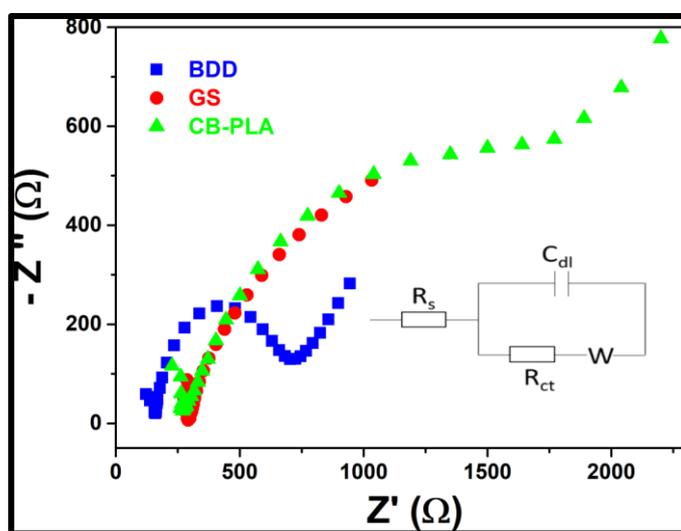
Além disso, após 50 voltamogramas cíclicos na presença de ferricianeto em KCl 0,1 mol L⁻¹, os potenciais de pico deslocam 12 mV usando ambos CB-PLA da tampa, um valor maior em comparação ao obtido o RE externo (1 mV). Contudo, a variação encontrada no CB-PLA (PRE) pode ser considerada desprezível, o que demonstra a sua capacidade em controlar o potencial da célula eletroquímica.

Para avaliar a reprodutibilidade dos eletrodos de pseudo referência, foram realizadas medidas com três células (3D-MSEC), ou seja, três eletrodos de CE e PRE diferentes. Deste estudo obteve-se RSD de $E_{pa} = 4,1\%$, valor semelhante ao obtido usando três diferentes eletrodos de referência convencional RSD de $E_{pa} = 3,1\%$. Assim, a configuração da célula proposta usando o conjunto de eletrodos da tampa exibiu resultados semelhantes aos eletrodos comerciais. Além disso, a montagem desse sistema de três eletrodos é mais prática e mantém uma distância próxima entre os três eletrodos, o que favorece a obtenção de resultados reprodutíveis. Todos os estudos realizados quanto a estabilidade e a reprodutibilidade do PRE da 3D-MSEC demonstram que o PRE pode ser empregado em medidas eletroquímicas para controlar o potencial do ET.

A Figura 26 mostra os resultados por EIS dos três eletrodos de trabalho avaliados, no qual observa-se que o GS apresenta a menor resistência à transferência de carga (R_{ct} : 231 Ω) em comparação aos outros eletrodos de carbono avaliados (BDD:

490 Ω ; CB-PLA: 804 Ω). Tal resultado pode ser explicado devido ao alto teor de partículas de grafite condutiva (carbono sp^2) na composição do eletrodo e pequena espessura (70 μm).

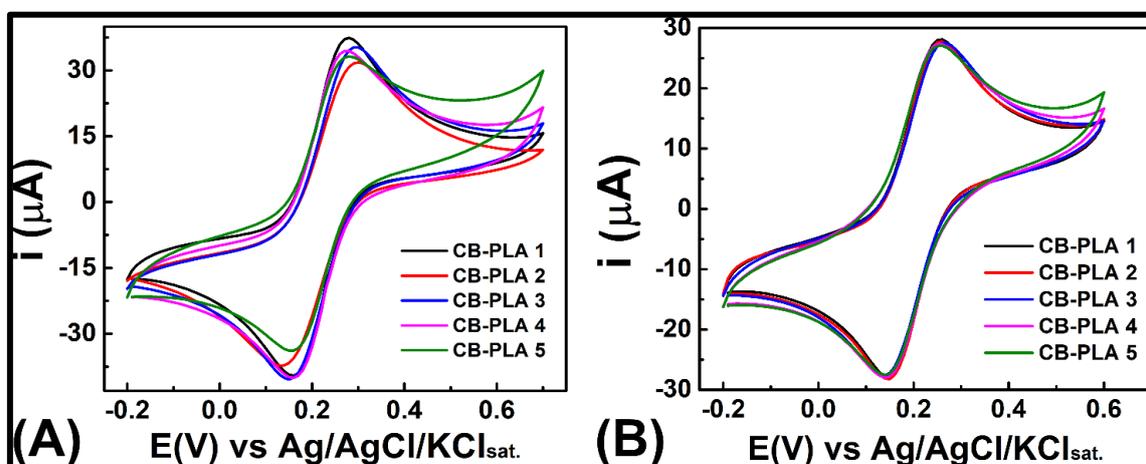
Figura 26 - Espectroscopia de impedância eletroquímica (diagrama de Nyquist) para BDD, GS e CB-PLA impresso em 3D na presença de 1:1 mmol L^{-1} $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ em KCl 0,1 mol L^{-1} e modelagem de circuito equivalente (inserção) com elementos de circuito (C: capacitor, R: resistores, W: impedância de Warburg). Condições: Faixa de frequência: 1 Hz a 50.000 Hz, Amplitude: 10 mV, Pontos por década: 10.



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

A repetibilidade do protocolo alternativo para confeccionar eletrodos CB-PLA foi investigada por voltametria cíclica em solução de ferricianeto de potássio 1,0 mmol L^{-1} e KCl 0,5 mol L^{-1} com cinco eletrodos CB-PLA impressos com caneta 3D (Figura 27A). A partir deste estudo, foram obtidos valores de RSD de 10,6% (i_{pa}) e 4,5% (E_{pa}). Quando os mesmos experimentos foram realizados com cinco eletrodos CB-PLA produzidos em uma impressora 3D (Figura 27B), valores RSD de 6,8% (i_{pa}) e 1,8% (E_{pa}) foram obtidos. Assim, embora as superfícies impressas produzidas pela caneta 3D possam não ser tão uniformes como nas impressoras 3D, a reprodutibilidade de fabricação deste protocolo alternativo (caneta 3D) é comparável ao usual (impressora 3D). Provavelmente, essa reprodutibilidade semelhante foi obtida uma vez que todas as superfícies impressas foram submetidas aos mesmos tratamentos (polimento mecânico e ativação eletroquímica).

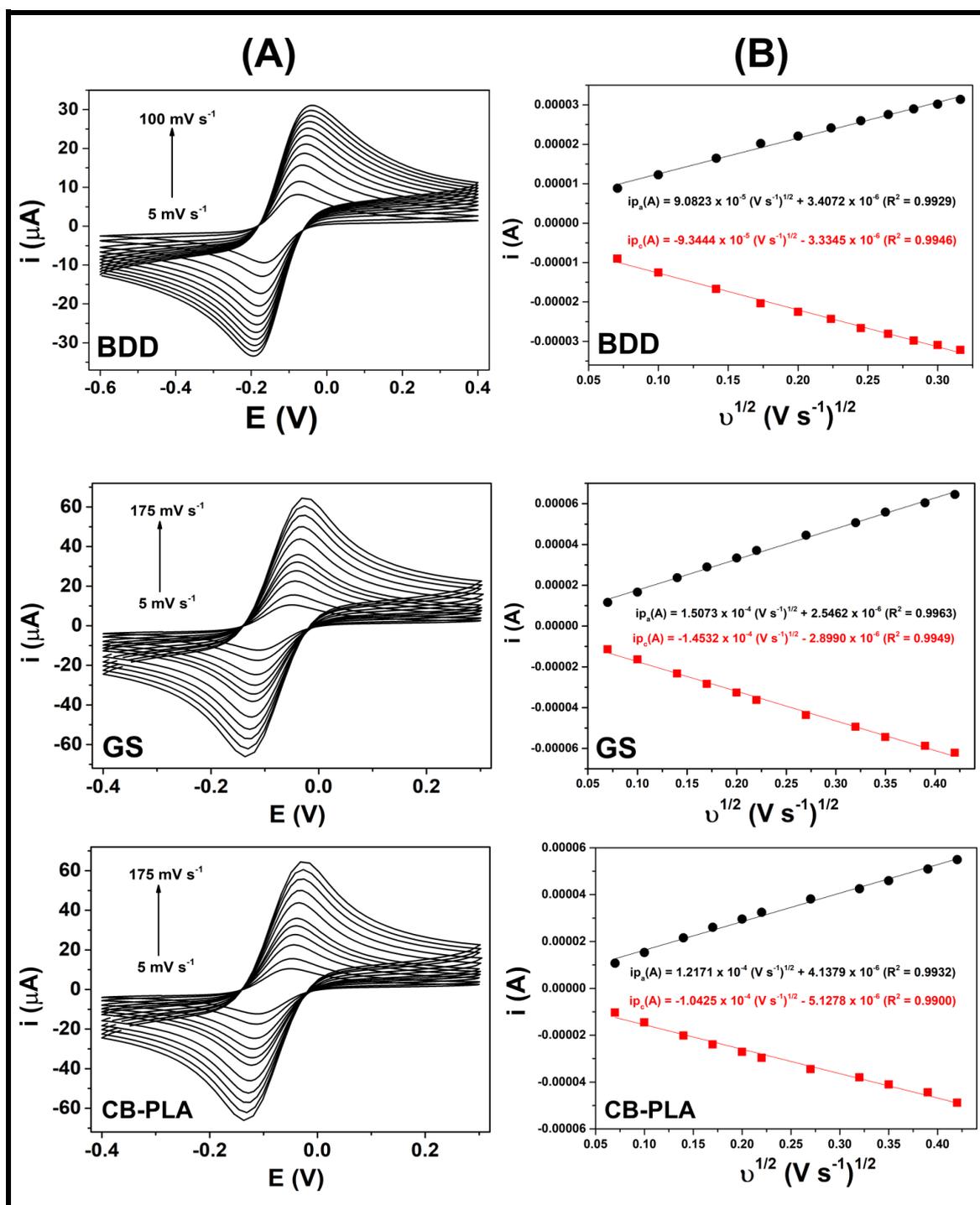
Figura 27 – Voltamogramas cíclicos realizados na presença de $K_3[Fe(CN)_6]$ $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ usando cinco CB-PLA diferentes fabricados em caneta 3D (A) e impressora 3D (B). Eletrólito: $KCl \text{ } 0,50 \text{ mol L}^{-1}$; $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

A Figura 28 apresenta a dependência entre as correntes de pico de ferricianeto com a raiz quadrada da velocidade de varredura. Conforme apresentado, uma relação linear entre as duas variáveis indica que a transferência de massa para os três materiais é um processo controlado por difusão. Além disso, a razão entre i_{pa}/i_{pc} foi próxima à unidade para os três eletrodos de trabalho. Estes comportamentos são semelhantes aos obtidos para sistemas reversíveis controlados por difusão em células eletroquímicas convencionais.

Figura 28 – Voltamogramas cíclicos em 1,0 mmol L⁻¹ de ferricianeto de potássio e KCl 0,10 mol L⁻¹ em diferentes velocidades de varredura (v) (A) e as respectivas i_{pa} vs. $v^{1/2}$ e i_{pc} vs. $v^{1/2}$ para BDD, GS e CB-PLA impresso com caneta 3D (B).



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

A Tabela 4 apresenta o custo e alguns parâmetros eletroquímicos calculados a partir de medidas por voltametria cíclica na presença de sonda redox de ferricianeto de potássio 1,0 mmol L⁻¹ para os três eletrodos de trabalho investigados. Adicionalmente,

observou-se que durante cinquenta medições sucessivas, os potenciais de pico apresentaram pequenas variações para todos os eletrodos de trabalho (RSD's <15%), indicando novamente o bom desempenho do CB-PLA para controlar o potencial da célula impressa em 3D. É interessante ressaltar que o CB-PLA e o GS que são materiais alternativos apresentaram desvio próximo ao obtido com o BDD, um eletrodo bem estabelecido na literatura. Por meio da Tabela 4, também é possível observar que a relação i_{pa}/i_{pc} ficou próxima de um em todos os eletrodos de trabalho, demonstrando a boa reversibilidade dessa sonda redox em todos os sensores investigados.

De modo geral, o GS apresentou o melhor desempenho eletroquímico (menores ΔE_p e R_{ct} e maior ECSA), aliado ao baixo custo (US\$ 0,17, cem vezes menor que o BDD) e ao uso na condição de recebido (não requer pré-tratamento). Entretanto, um eletrodo de GS pode ser considerado descartável¹⁴¹, enquanto a mesma placa de BDD pode ser usada várias vezes com obtenção de resultados reprodutíveis (após ativação eletroquímica). Por outro lado, embora o CB-PLA impresso em 3D tenha apresentado o pior desempenho eletroquímico comparativo, este apresenta custo desprezível (US\$ 0,02) e também pode ser utilizado repetidas vezes (não descartável) devido ao reestabelecimento de sua superfície após novos polimentos e ativações eletroquímicas⁵⁹. No entanto, tratamentos repetitivos podem diminuir muito a espessura do sensor, o que pode causar a ruptura de eletrodos mais finos (geralmente abaixo de 50 μm) durante a montagem na célula (pressão exercida no ato de rosquear a célula). Neste caso, um novo eletrodo impresso em 3D é necessário.

Tabela 4 - Custo e caracterização eletroquímica dos eletrodos de trabalho avaliados usando a sonda redox de ferricianeto de potássio.

	BDD (Neocoat®)	GS (Panasonic®)	CB-PLA (Protopasta®)
Valor unitário* (US\$)	17,18	0,18	0,020
E_{pa} (mV)**	-50	-42	-17
ΔE_p (mV)**	105	76	116
ECSA ^a (cm ²)***	0,122	0,203	0,150
GA ^b (cm ²)	0,196	0,196	0,196
RF ^c	0,622	1,036	0,765
J_{pa}^d (μA/cm ²)	198	183	216
i_{pa}/i_{pc} **	0,993	1,022	1,094
RSD _{E_{pa}} ** (%; n= 50)	10,1	12,5	15,0
R_{ct} (Ω)	490	231	804

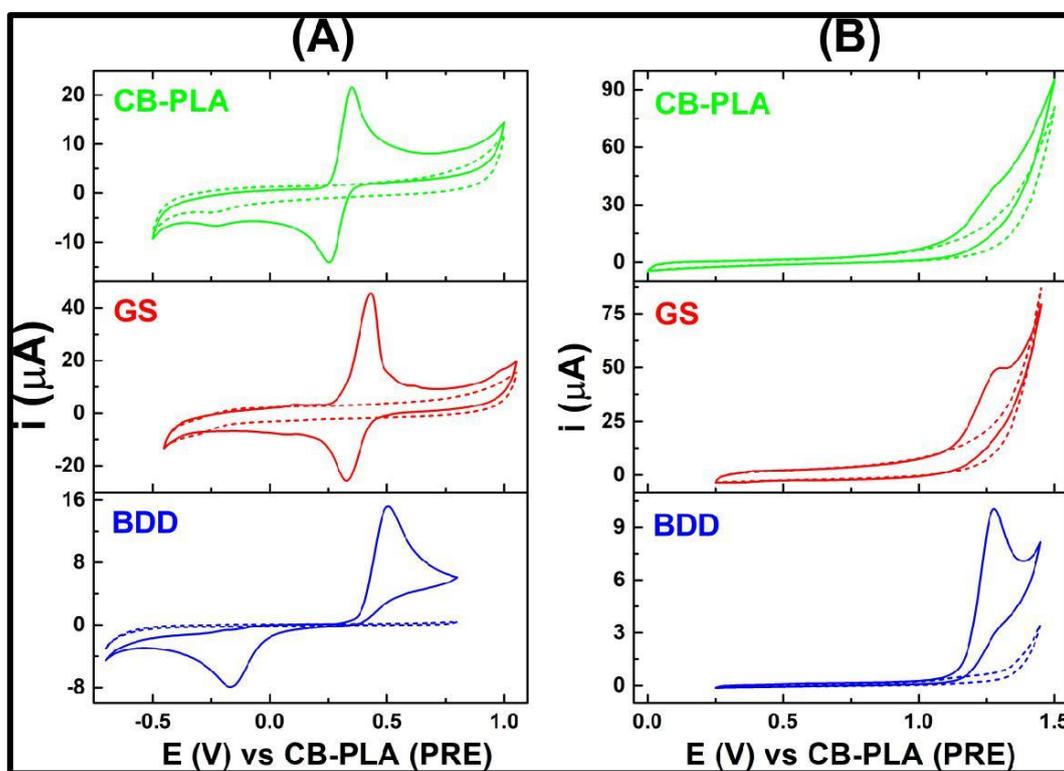
^aECSA: Área superficial eletroquimicamente ativa; ^bGA: Área geométrica (cm²), definida pelo O'ring de borracha (diâmetro interno = 0,5 cm); ^cRF: Fator de rugosidade (ECSA/GA); ^d J_{pa} : Densidade de corrente do pico anódico ($i_{pa}/ECSA$). *Valor do material (excluindo taxas de importação e transporte); ** Valores obtidos de VC na presença de ferricianeto de potássio 1,0 mmol L⁻¹ (velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹); ***Valores calculados substituindo a inclinação do gráfico i_{pa} vs $v^{1/2}$ na equação de Randles-Sevcik e usando os valores constantes para Fe(CN)₆³⁻ (n = 1 e D = 0,763 x 10⁻⁵ cm² s⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹).

Os perfis voltamétricos obtidos com os três eletrodos de trabalho também foram registrados na presença de analitos modelo orgânicos. A Figura 29 apresenta os voltamogramas cíclicos na ausência e na presença de soluções de paracetamol (Figura 29A) e cafeína (Figura 29B). Conforme mostrado (Figura 29A), o paracetamol exibiu picos anódicos e catódicos bem definidos em todas as superfícies de carbono, com melhor reversibilidade e maiores correntes no GS.

No entanto, reversibilidade comparável também foi observada para CB-PLA. Para a cafeína (Figura 29B), foi observada apenas uma corrente de pico anódica em

todos os eletrodos (sistemas irreversíveis), em GS e CB-PLA os potenciais de pico estavam na região de descarga anódica, com piores respostas para o eletrodo CB-PLA devido à maior resistência de transferência de elétrons (Tabela 4, Figura 26). No eletrodo BDD, o pico de oxidação da cafeína tem melhor definição (sem sobreposição com a descarga anódica), antes da região de descarga, devido à sua maior janela de potencial característica¹³⁵.

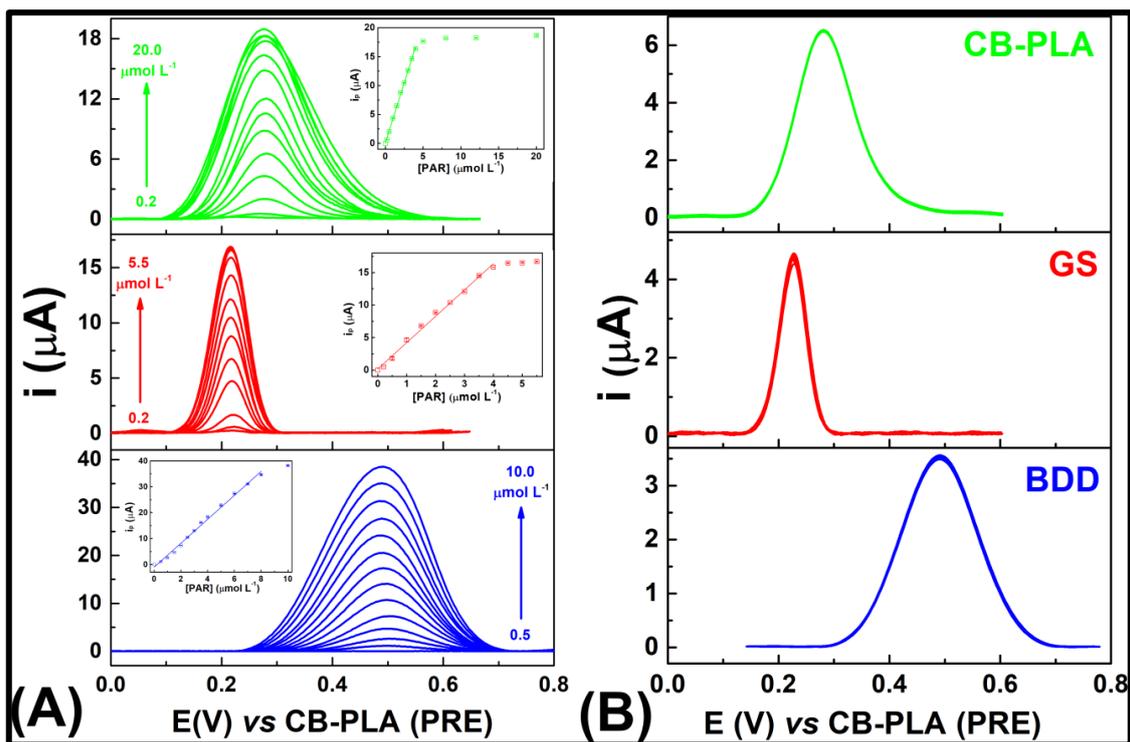
Figura 29 - Curvas VC para diferentes eletrodos de trabalho (BDD, GS e CB-PLA) na 3D-MSEC na ausência (---) e na presença (—) de (A) paracetamol 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) cafeína 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte (A e B): tampão de acetato 0,10 mol L^{-1} (pH 4,70). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

O desempenho eletroquímico comparativo dos sensores na 3D-MSEC também foi investigado usando paracetamol como analito modelo, por voltametria de pulso diferencial (VPD) na presença de concentrações crescentes de paracetamol (Figura 30A) e dez medições sucessivas na mesma concentração (Figura 30B). As características analíticas (inclinação, LOD, faixa linear, coeficiente de correlação e desvio padrão relativo) obtidas destes experimentos estão resumidas na Tabela 5.

Figura 30 - Curvas VPD usando a 3D-MSEC com diferentes ET (BDD, GS e CB-PLA) para concentrações crescentes de paracetamol (A) e dez medições sucessivas de paracetamol $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ para BDD e CB-PLA e $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ para GS (B). As inserções em (A) mostram as respectivas curvas analíticas para o paracetamol (média das correntes de pico com desvio padrão em função da concentração de paracetamol). Condições VPD: E_a : 100 mV, v : 70 mVs^{-1} , t : 7 ms^{143} . Eletrólito de suporte: tampão de acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7).



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

Tabela 5 - Comparação entre os parâmetros analíticos obtidos para paracetamol em BDD, GS e CB-PLA montados na 3D-MSEC.

	BDD	GS	CB-PLA
Sensibilidade ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	4,62(\pm 0,105)	4,05(\pm 0,107)	4,16(\pm 0,016)
LOD ^a ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,012	0,019	0,014
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,20 – 8,0	0,20 – 4,0	0,20 – 4,0
R ²	0,99	0,99	0,99
%RSD ^b (n=10)	0,83	1,82	2,22

^aLOD: Limite de detecção, calculado como $3 \times \text{SD}_B / S$, em que SD_B é o desvio padrão de cinco soluções em branco (eletrólito) e S é a sensibilidade (inclinação da curva de calibração). ^b% RSD: Desvio padrão relativo de dez correntes de pico da Figura 30B.

Como mostrado (Figura 30), o paracetamol exibiu a melhor definição de pico no eletrodo GS como consequência da melhor reversibilidade de pico e menor resistência de transferência de elétrons (Tabela 4, Figura 26) e o BDD exibiu maior sensibilidade, menor LOD, maior faixa linear e melhor precisão do que os outros sensores (Tabela 5). Contudo, o eletrodo CB-PLA impresso com caneta 3D exibiu desempenho analítico ligeiramente inferior do que o BDD, o que é relevante considerando seu custo consideravelmente inferior (US\$ 0,02 vs 17,18) e fácil protocolo de produção. Além disso, o LOD obtido para o paracetamol no sensor impresso em caneta 3D foi mais baixo do que o obtido em um sensor impresso em 3D relatado na literatura que utilizou um filamento condutor ABS ($0,014 \mu\text{mol L}^{-1}$ vs $2,84 \mu\text{mol L}^{-1}$)⁵⁸.

3.3.3 3D-MSEC na triagem de drogas: sensores flexíveis de baixo custo como plataformas únicas para amostragem direta sobre sólidos e detecção voltamétrica.

Recentemente, sensores flexíveis de baixo custo tem sido propostos como plataformas únicas para coleta e detecção eletroquímica de amostras em forma de pó, o que é uma estratégia interessante para a triagem direta de amostras sólidas sem a necessidade de complexas etapas de preparação de amostra. Nesse procedimento, o

sensor é friccionado contra a amostra pulverizada e montado em uma célula eletroquímica, na qual é adicionado o eletrólito para a triagem voltamétrica do analito impregnado na superfície do sensor^{101,144}. Castro *et al.*¹⁴⁴ verificaram que o eletrodo GS é uma plataforma flexível, de baixo custo, condutora e descartável para coleta e detecção de resíduos de 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) por VOQ. Usando esta mesma abordagem, um sensor impresso em 3D (Gr-PLA) também foi utilizado para identificar TNT¹⁰⁰ e resíduos de disparos de arma de fogo (Pb^{2+} e Sb^{3+})¹⁰¹ em amostras forenses. Portanto, essa abordagem é promissora para uma investigação rápida e no local da cena do crime. Além disso, a triagem voltamétrica é mais sensível e seletiva do que os ensaios colorimétricos qualitativos. Então, esta estratégia prática (amostragem no eletrodo seguida de rápida triagem voltamétrica) também pode ser explorada para a triagem (“screening”) de medicamentos sólidos, o que é uma alternativa mais barata do que alguns métodos espectroscópicos (infravermelho próximo - NIR e Raman) comumente empregados em análises forenses na triagem direta de sólidos¹⁴⁵.

Conforme recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS)²⁴, os métodos de triagem são necessários para fornecer identificação ou semiquantificação de ingrediente farmacêutico ativo (API) em produtos legais ou falsificados. No entanto, métodos analíticos quantitativos também podem ser necessários, nos quais a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de massa (CG-MS e HPLC-MS) são amplamente utilizadas^{7,10,31}.

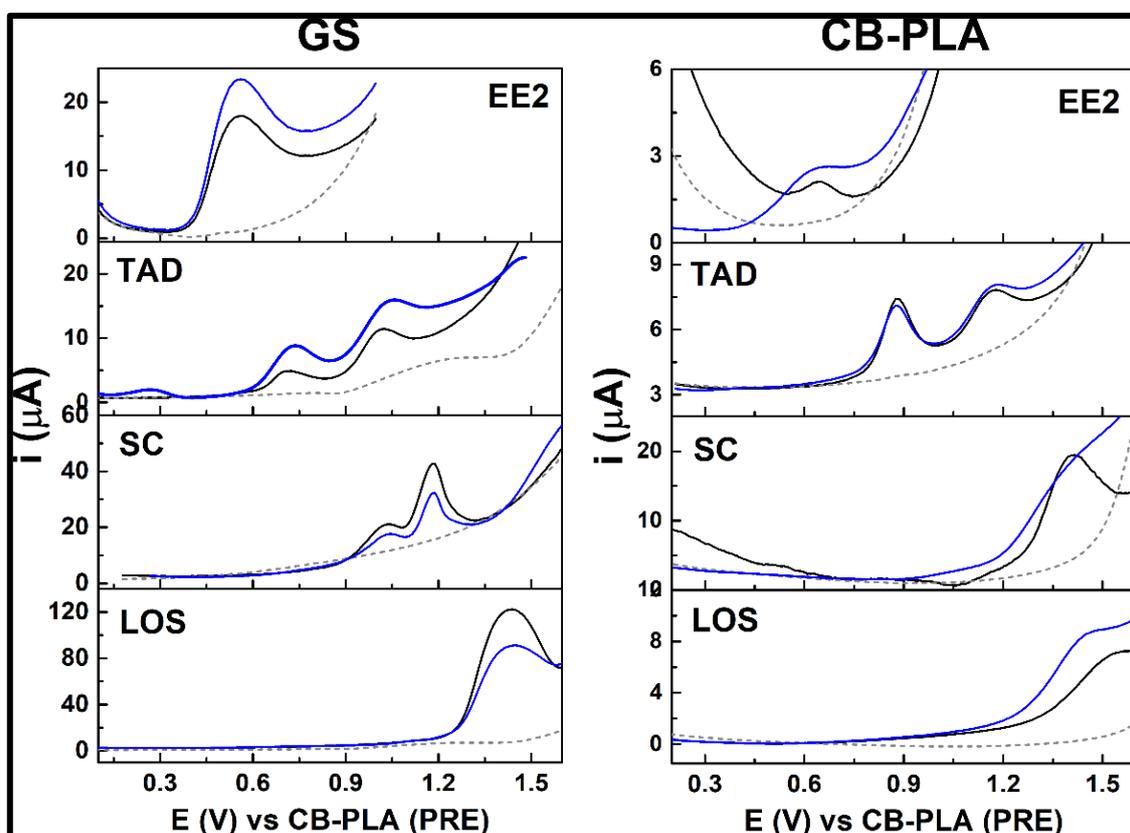
Para demonstrar o uso da 3D-MSEC para amostragem direta e triagem eletroquímica de drogas em amostras forenses, princípios ativos (API's, do inglês “active pharmaceutical ingredients”) com histórico de falsificação ou adulteração: citrato de sildenafil (SC), tadalafila (TAD), losartana (LOS) e 17α -etinilestradiol (EE2).

As Figura 31 mostram as curvas VOQ para o branco (linhas tracejadas) e a primeira varredura realizada imediatamente após a amostragem de cada fármaco nos eletrodos GS e CB-PLA. Conforme mostrado na Figura 30, o GS apresentou curvas voltamétricas mais evidentes para todos os analitos como consequência da melhor cinética de transferência de elétrons em comparação com CB-PLA (Tabela 4).

Em ambos os sensores, GS e CB-PLA (Figuras 31), os perfis voltamétricos (E_p) das formulações farmacêuticas comerciais (linhas pretas) e dos padrões de referência (linhas azuis) foram semelhantes. Isso sugere apenas a presença do API esperado nos produtos farmacêuticos investigados. Apesar disso, as magnitudes das correntes de pico

eram diferentes, às vezes mais altas para os padrões de referência ou vice-versa. Provavelmente ocorreram diferenças na massa amostrada em cada pedaço do sensor resultando nessa discrepância. Por outro lado, a definição de todos os picos (largura e altura) era menos evidente no eletrodo CB-PLA impresso em caneta 3D, o que poderia levar a conclusões duvidosas no caso de seu uso em aplicações práticas.

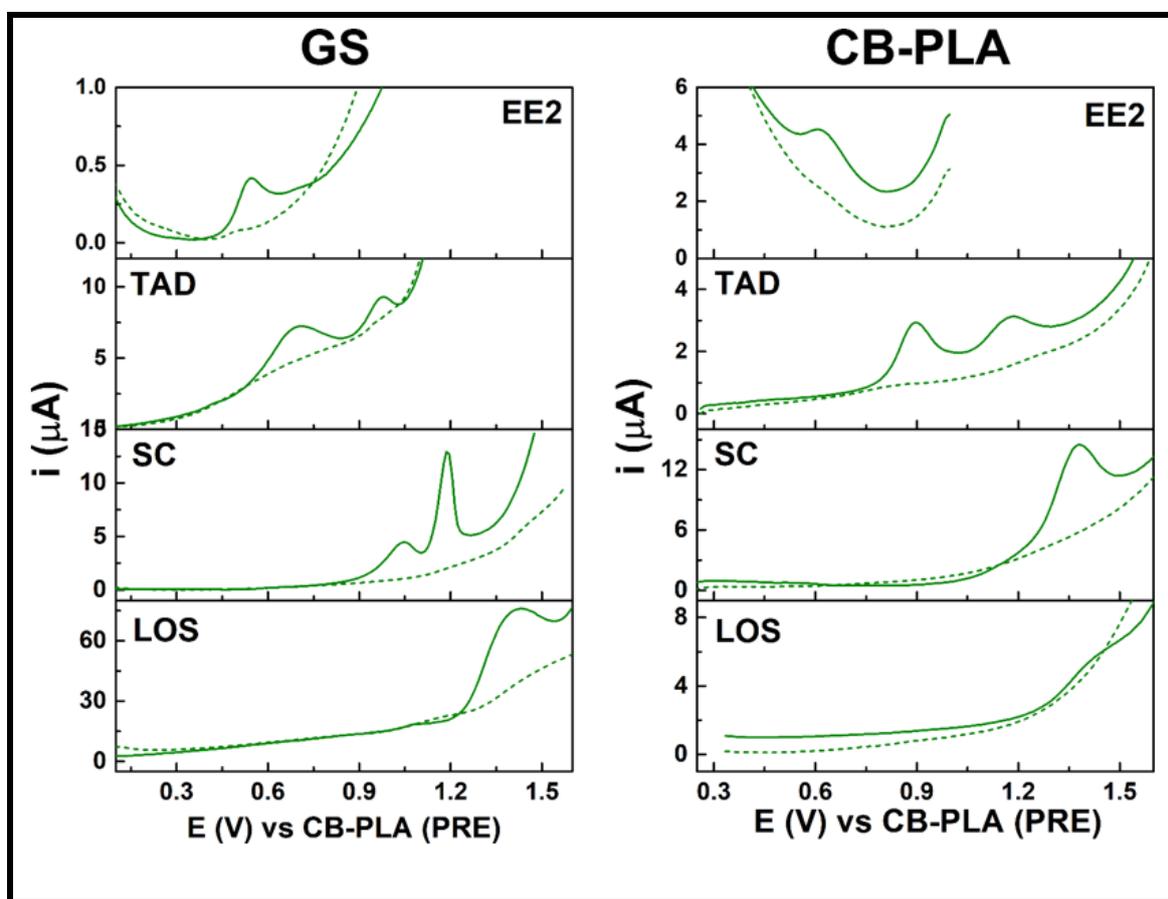
Figura 31 – Curvas VOQ realizadas após a amostragem de cada droga (LOS, SC, TAD e EE2) em GS e CB-PLA impresso em caneta 3D com os padrões analíticos (linhas azuis) e formas farmacêuticas (linhas pretas). Os respectivos brancos (abrasão do sensor em um papel filtro sem a droga) são mostrados como linhas tracejadas. Condições: Seção 3.2.5.



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

A Figuras 32 mostra as medidas realizadas usando as soluções aquosas com o padrão de cada analito (EE2, SC, TAD e LOS) empregando o GS e CB-PLA. Esses resultados mostram que os processos eletroquímicos observados com as medidas no sólido correspondem aos obtidos com a solução aquosa.

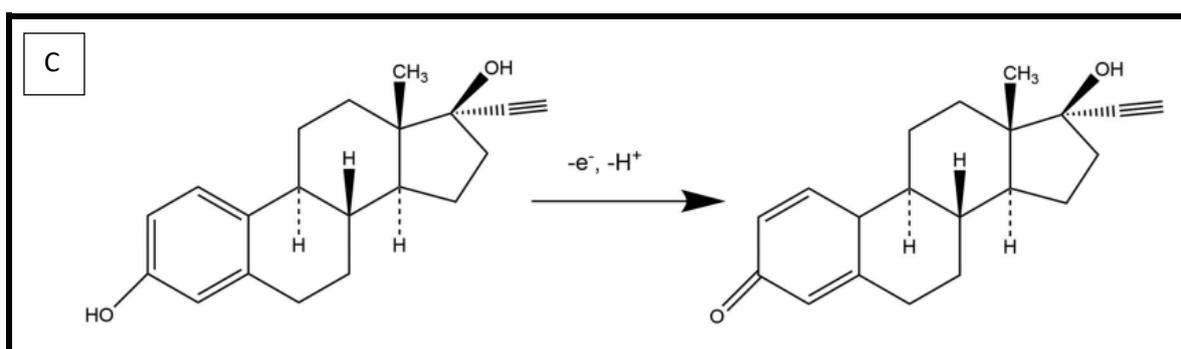
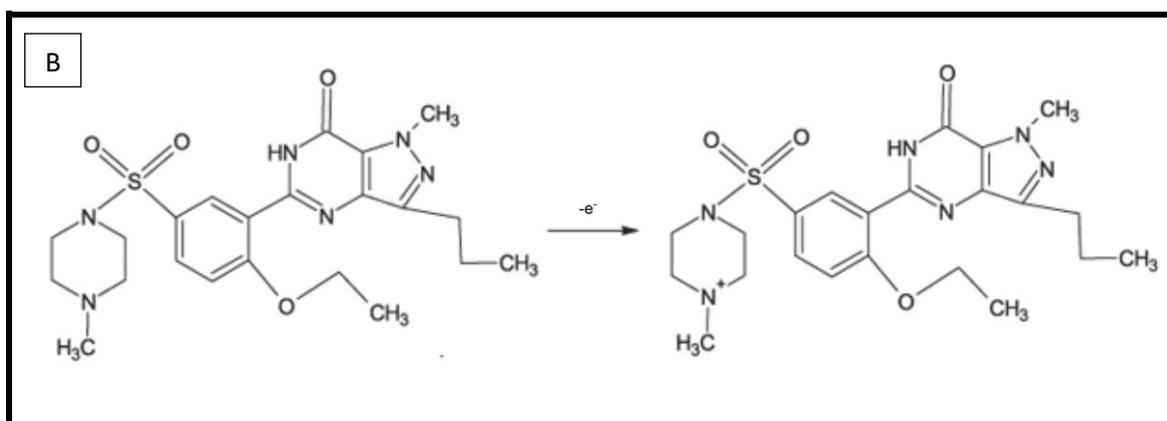
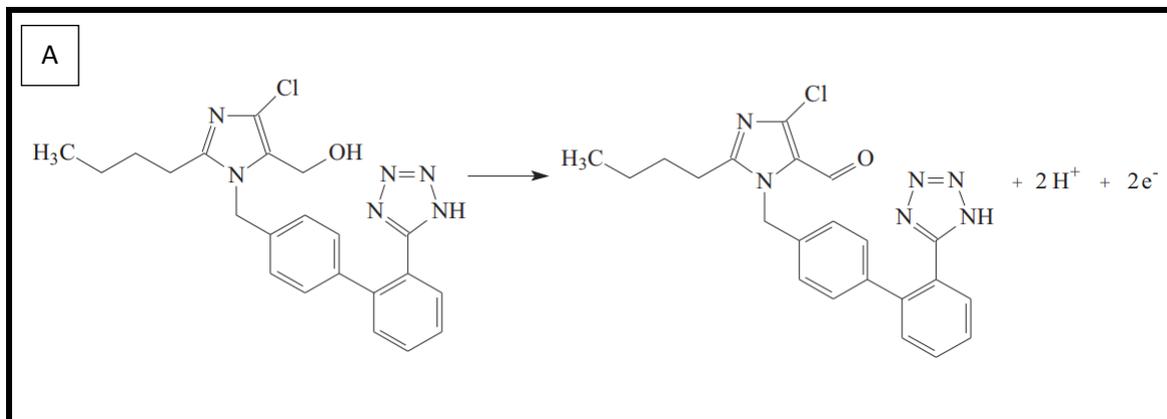
Figura 32 – Voltamogramas de onda quadrada realizados com os eletrodos GS/CB-PLA na ausência (---) e na presença (—) de soluções individuais de LOS (50,0/150,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$), SC (5,0/5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$), TAD (5,0/5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e EE2 (5,0/20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Condições: Seção 3.2.5.

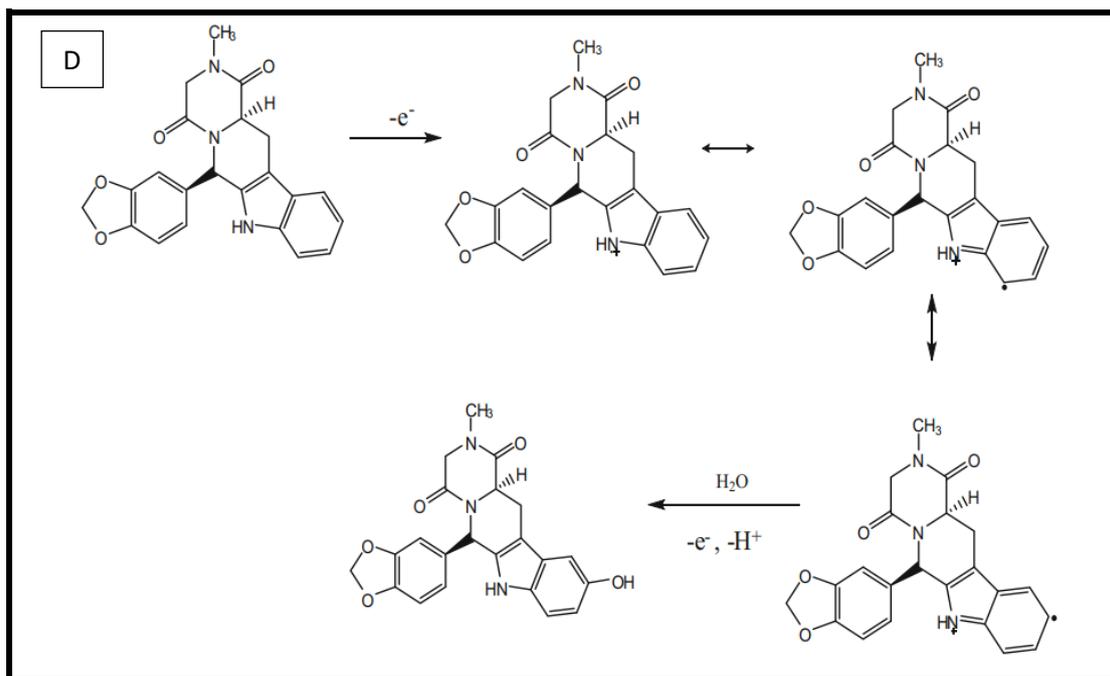


Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

Os perfis voltamétricos obtidos no eletrodo GS foram semelhantes aos obtidos em outros eletrodos à base de carbono (com exceção do TAD)^{120,137,146,147}. Segundo esses trabalhos, os seguintes processos redox em soluções aquosas estão relacionados aos picos obtidos no eletrodo GS: (LOS) oxidação da hidroxila no grupo imidazol em um mecanismo envolvendo dois prótons e dois elétrons (Figura 33A)¹³⁷; (SC) Oxidação do anel piperazina (1º pico) e adsorção-dessorção (2º pico) do produto gerado no primeiro processo (Figura 33B)^{146,148}; (EE2) oxidação do grupo hidroxila do fenol em um mecanismo de um próton e um elétron (Figura 33C)¹⁴⁹; (TAD) Oxidação do átomo de nitrogênio no grupo indol (1º pico) seguida da hidroxilação do anel benzênico, em um mecanismo de um próton e dois elétrons (Figura 33D)^{120,147}. De acordo com o conhecimento dos autores, o segundo pico da TAD e o respectivo mecanismo não foi relatado anteriormente em outros eletrodos à base de carbono^{108,119,120,147}.

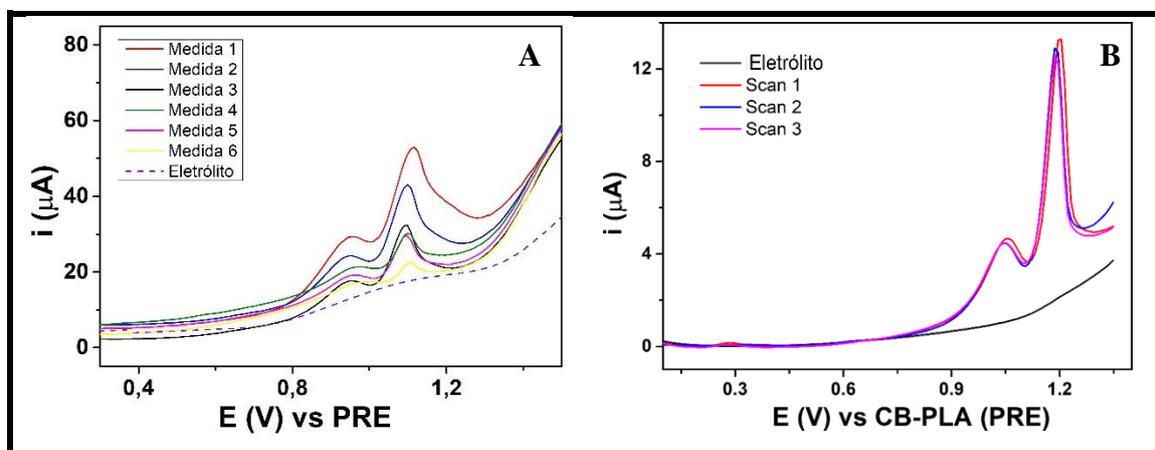
Figura 33 – Mecanismo de oxidação eletroquímica para cada droga: (A) losartana, (B) citrato de sildenafil, (C) 17 α -etinilestradiol e (D) tadalafila.





É importante salientar que somente a primeira varredura da amostragem no sólido foi escolhida uma vez que as correntes de pico se tornaram consideravelmente menores durante as sucessivas medições (Figura 34A), devido à diluição gradual (difusão) das espécies eletroativas da superfície do ET para o seio da solução. No entanto, a queda abrupta da corrente não foi observada em medições sucessivas com a solução do analito (Figura 34B), devido ao transporte de massa controlado do analito da solução para a superfície do ET.

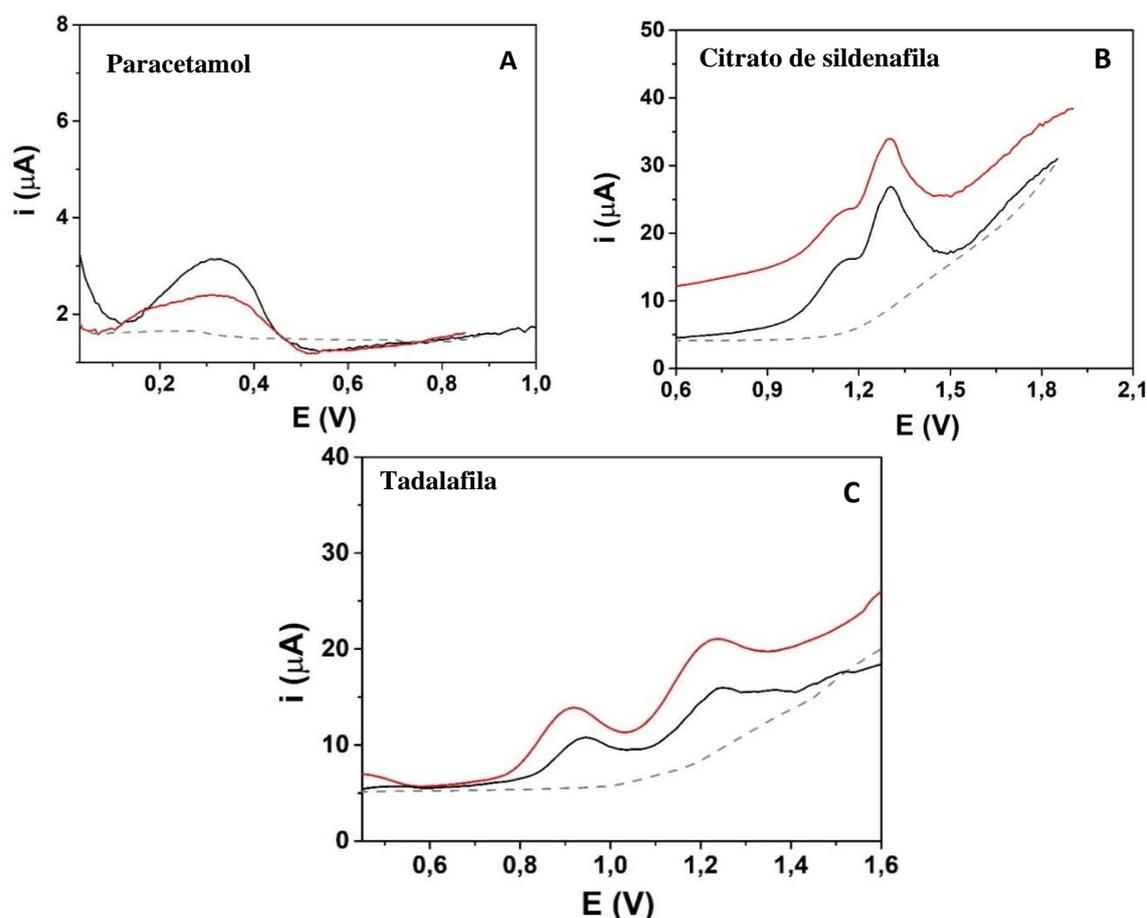
Figura 34 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com GS para sucessivas varreduras de (A) SC impregnado na superfície ($n = 6$) e (B) solução de SC $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$). Eletrólito suporte: tampão BR (pH 4,0); Condições VOQ: $f = 20 \text{ Hz}$, $E_a = 30 \text{ mV}$, $E_s = 9 \text{ mV}$.



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

Essa abordagem da abrasão do pó diretamente sobre o sensor de GS também foi explorada na tentativa de quantificação ou semi-quantificação de citrato de sildenafil, tadalafila e paracetamol utilizando a célula 3D-MSEC e a equação de Faraday para eletrólise^{101,144}. Nesse procedimento o GS foi friccionado sobre o pó do padrão ou da amostra e logo em seguida o GS foi montado na célula e adicionado o eletrólito para registro dos voltamogramas. É relevante citar que após a fricção, visualmente, não restou pó sobre o papel filtro. Os resultados obtidos com as amostras e os padrões estão presentes na Figura 35 juntamente com os voltamogramas da medida no branco (linha cinza).

Figura 35 – Voltamogramas de onda quadrada registrados após a abrasão do pó das amostras (linha preta) e dos respectivos padrões (linha vermelha) de (A) paracetamol, (B) citrato de sildenafil e (C) tadalafila na superfície do GS. Condições: Seção 3.2.5.



É possível calcular a quantidade de espécies ativas com base nos picos voltamétricos obtidos por VOQ usando a Lei de Faraday para eletrólise^{101,144}:

$$m = \frac{MM \times Q}{96485,3329 \times n}$$

Onde m é a massa do analito (g), Q é carga gerada na oxidação da espécie (C), MM é a massa molar (g mol^{-1}) e o n corresponde ao número de elétrons. Como encontrado em trabalhos anteriores, o número de elétrons transferidos durante a oxidação dos analitos correspondem a 2, 1 e 2 para tadalafila^{120,147}, citrato de sildenafil^{146,148} e paracetamol¹⁴³, respectivamente. A equação de Faraday mostra que a carga elétrica, gerada durante o processo de oxidação do analito, é proporcional à massa da espécie eletroativa¹⁰¹. O valor da carga elétrica (Q) foi obtido integrando-se a área dos picos de cada molécula detectada na primeira varredura, tal como utilizado anteriormente para a semi-quantificação de TNT¹⁴⁴. A Tabela 10 mostra os valores de massa de paracetamol, citrato de sildenafil e tadalafila calculados usando os dados das varreduras e Lei de Faraday.

Os valores apresentados na Tabela 6 mostram que as espécies apresentaram baixa adesão na superfície do GS, visto que a quantidade de massa utilizada no momento da fricção do GS sobre o pó foi de 0,70 mg. Porém, o valor calculado de cada espécie na superfície do eletrodo ficou na escala de nanogramas. Este resultado pode estar relacionado com baixa adesão do pó sobre a superfície do GS durante a fricção ou talvez boa parte do analito saiu da superfície no primeiro contato com o eletrólito adicionado. Castro et al.¹⁴⁴ também detectaram baixas quantidades (ng) de TNT em superfícies variadas. Contudo, novos estudos serão conduzidos para melhorar esta metodologia. Esta abordagem é bem interessante, uma vez que seria possível quantificar (ou semi-quantificar) muito rapidamente alguma espécie eletroativa com apenas um voltamograma, além de dispensar a realização de curvas analíticas ou até mesmo a aquisição de um padrão analítico.

Tabela 6 - Valores de massa encontrados na superfície do eletrodo GS calculados usando a Lei de Faraday para os picos obtidos na primeira varredura após a coleta.

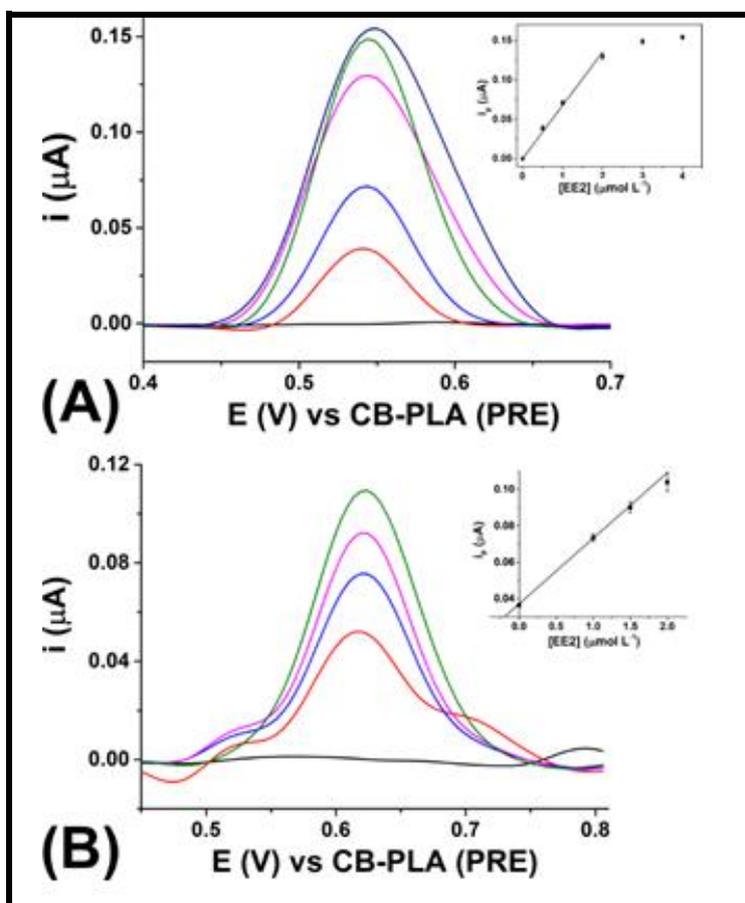
Teor de SC (ng por comprimido)		
	Padrão (ng)	Amostra (ng)
Citrato de sildenafil	2,57 ($\pm 1,70$)	3,63 ($\pm 0,80$)
Tadalafila	0,55 ($\pm 0,12$)	0,54 ($\pm 0,14$)
Paracetamol	0,23 ($\pm 0,12$)	0,14 ($\pm 0,10$)

3.3.4 Aplicação da 3D-MSEC na análise quantitativa de EE2 em contraceptivo

A análise quantitativa de princípio ativo em medicamentos é necessária em muitos casos, seja para o doseamento em amostras apreendidas ou para fins de controle de qualidade de medicamentos. Objetivando apresentar uma aplicação da 3D-MSEC para a determinação de API em medicamentos, foram realizados estudos para determinar EE2 em pílulas anticoncepcionais com o eletrodo GS, devido ao melhor compromisso entre preço e desempenho eletroquímico. Em primeiro lugar, as respostas VOQ foram avaliadas na presença de soluções de EE2 em diferentes concentrações (0,5 - 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Conforme mostrado na Figura 36A, o EE2 exibiu dependência linear satisfatória entre a corrente de pico e a concentração em um curto intervalo de concentração, de 0,50 a 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9943$) com a seguinte curva de calibração linear: $i_p(\mu\text{A}) = 7,983 \times 10^{-10} (\pm 1,953 \times 10^{-6}) + 0,068 (\pm 0,003) [\text{EE2}] (\mu\text{mol L}^{-1})$. A partir deste estudo, um LOD teórico de 0,0081 μM foi calculado ($3 \times \text{SD}_B/\text{S}$).

Posteriormente, o EE2 foi determinado em um comprimido comercial via o método de adição de padrão (Figura 36B). A partir desse estudo, foi encontrado um valor de 0,052 mg ($\pm 0,004$) de EE2 por comprimido, um valor próximo em comparação ao rotulado (0,050 mg). Por último, a exatidão foi avaliada por um teste de adição e recuperação, no qual uma quantidade conhecida de EE2 foi adicionada ao comprimido comercial. Neste estudo, foi obtido um valor de recuperação aceitável de 106%, o que indica a boa acurácia do sistema para determinar EE2.

Figura 36 – Curvas VOQ obtidas na 3D-MSEC com eletrodo GS para (A) EE2 na faixa de concentração de 0,0 a 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e respectiva curva de calibração (inserção) e (B) solução da amostra (linha vermelha) com três adições do padrão de EE2 (1,0, 1,5 e 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e respectiva curva de adição de padrão (inserção). Condições: VOQ ($f = 30 \text{ Hz}$, $E_a = 40 \text{ mV}$, $E_s = 5 \text{ mV}$). Eletrólito suporte: tampão BR (pH 8,0).



Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*⁶² 2021.

3.4 Conclusão

Esse capítulo apresentou uma miniaturizada célula eletroquímica impressa em 3D compatível com qualquer eletrodo de trabalho planar. O corpo da célula (bastão, tampa e reservatório de solução) foi fabricado em ABS em uma impressora 3D enquanto o eletrodo de pseudo-referência e o contra eletrodo foram impressos sobre a tampa da célula usando uma caneta 3D comum e um filamento condutor comercial (compósito de CB-PLA). Assim, um sistema eletroquímico completo prático e compacto foi construído combinando instrumentos de impressão 3D mais baratos do que outros dispositivos fabricados por impressora 3D de extrusão dupla.

Esta pequena célula impressa em 3D apresenta baixo custo (US\$ 0,30) e requer volumes de eletrólitos menores (0,50 - 3,0 mL) do que muitas células impressas em 3D relatadas na literatura. O novo protocolo para fabricar sensores impressos em 3D usando caneta 3D é mais fácil e barato do que o usado em impressoras 3D. As respostas eletroquímicas foram estáveis na presença da sonda redox (ferricianeto/ferrocianeto) e de analitos modelo (paracetamol e cafeína) usando RE e CE comercial ou impresso em 3D na tampa da célula atuando como eletrodos de CE e PRE. O eletrodo de GS apresentou o melhor compromisso entre custo e desempenho voltamétrico do que outros eletrodos de trabalho avaliados (BDD e CB-PLA impresso com caneta 3D). O uso analítico dessa célula impressa em 3D foi explorado para a triagem de drogas, em que sensores flexíveis e de baixo custo foram usados como plataforma única para amostragem e detecção eletroquímica de fármacos sólidos na presença de apenas 500 µL de eletrólito.

Assim, medicamentos com histórico de falsificação ou adulteração (losartana, sildenafil, tadalafila e 17 α -etinilestradiol) foram investigados nas formas pura e farmacêutica. Essa abordagem é atrativa para análises farmacêuticas e forenses, uma vez que é um protocolo muito prático que permite uma rápida triagem de drogas no local. Outra aplicação analítica foi demonstrada para a determinação de 17 α -etinilestradiol em pílulas anticoncepcionais por meio do método de adição padrão. Os resultados aqui apresentados demonstram a viabilidade da célula impressa em 3D para fins analíticos qualitativos e quantitativos, sendo promissora para a eletroanálise de várias outras substâncias.

Capítulo IV: Triagem direta e determinação de citrato de sildenafil em comprimidos autênticos e falsificados empregando eletrodo de folha de grafite e uma célula eletroquímica miniaturizada impressa em 3D

Triagem direta e determinação de citrato de sildenafil em comprimidos autênticos e falsificados empregando eletrodo de folha de grafite e uma célula eletroquímica miniaturizada impressa em 3D

4.1 Introdução

Segundo o artigo 273 do Código Penal Brasileiro^{150,151}, a falsificação de medicamentos é crime contra a saúde pública^{1,4} e a pena varia de 10 a 15 anos de reclusão¹⁵¹. Com o advento da pandemia da COVID-19, houve muitas medidas de biossegurança entre elas o *lockdown*. O isolamento social contribuiu com o aumento das compras online de variadas categorias como, por exemplo, a aquisição de medicamentos. Neste período, muitos sites mal-intencionados enganaram os consumidores vendendo medicamentos falsificados. Essa foi uma das circunstâncias que levou a ANVISA alertar sobre o aumento das vendas dos remédios falsificados em 2020¹⁵¹.

Outro episódio que contribuiu com estes resultados foi a importação de medicamentos de empresas não idôneas por meio de planos de saúde. Ou seja, as empresas de assessoria optaram por adquirir medicamentos de empresas não confiáveis no exterior almejando preços mais baixos^{150,151}. Os medicamentos de alto custo também são alvos das quadrilhas de falsificações, visto que possuem uso restrito e o comércio de poucas unidades tem retorno favorável¹⁵⁰⁻¹⁵².

Segunda a ANVISA, os produtos farmacêuticos mais falsificados em 2020 foram Harvoni (hepatite C), Fluarix Tetra (vacina para gripe), Norditropin FlexPro e Norditropin Simplexx (distúrbio do crescimento), Victoza (diabete) e Saxenda (obesidade), Defitelio (síndrome de obstrução sinusoidal) e medicamentos oncológicos¹⁵⁰⁻¹⁵². Recentemente em 2022, a ANVISA apreendeu lotes falsificados de Imunoglobulina G Endovenosa¹⁵³ e autoteste da COVID-19 denominado Novel Coronavírus (Covid-19) Autoteste Antígeno¹⁵⁴.

No período entre 2007 a 2010, o Viagra[®] foi o medicamento campeão de falsificação no Brasil. Dentre as apreensões, 69% compreendiam os fármacos para impotência sexual (Cialis[®] e Viagra[®])^{3,4}. Dados de 1998 a 2015, também mostram o Cialis[®] e Viagra[®] ocupando o primeiro e o quinto lugar, respectivamente, entre as apreensões de medicamentos falsificados no intervalo citado². Apesar dos dados promulgados, ainda não existem metodologias oficiais para doseamento ou triagem do

citrato de sildenafil. Porém, existem vários trabalhos na área da eletroanalítica propondo metodologias para investigação qualitativa e/ou quantitativa do SC.

Backes *et al.*¹³⁸ empregaram sistemas em fluxo conhecidos como BIA (do inglês Batch Injection Analysis) e FIA (do inglês Flow Injection Analysis) usando eletrodo impresso de carbono (do inglês Screen Printed Electrodes - SPE) na detecção amperométrica de SC em amostras de Viagra® e genéricos. Neste estudo, o sistema BIA apresentou os melhores resultados na determinação de SC, visto que consumiu menos eletrólito, amostra e padrão além de proporcionar maior sensibilidade e frequência analítica. Os pesquisadores também relataram que o sistema BIA é mais simples e portátil. Em síntese, os métodos em fluxo fornecem resultados rápidos e são interessantes para análise de rotina em indústrias.

Cardozo *et al.*¹³⁰ propuseram dois métodos para triagem eletroquímica de SC em Viagra®, genéricos, amostras adulteradas e falsificadas. Na primeira estratégia a sildenafil foi submetida a voltametria de onda quadrada, os resultados obtidos para o conjunto de amostras foram submetidos a quimiometria. Já na segunda abordagem, foram empregados o sistema BIA e a detecção amperométrica. As amostras foram discriminadas usando a razão entre as correntes de pico anódicas obtidas nos três pulsos aplicados no eletrodo. De acordo com os autores, o segundo método é mais rápido e portátil podendo ser utilizado no local de apreensão sem a necessidade de tratamentos quimiométricos.

A tecnologia de manufatura aditiva tem sido empregada em vários segmentos da eletroanalítica^{54,73,103,155,156}. O uso da impressão 3D tem crescido exponencialmente devido as suas vantagens para a pesquisa, pois conferem independência, rapidez, simplicidade e personalização na produção de peças. Em consonância a tendência, a tecnologia 3D também foi utilizada na metodologia apresentada neste capítulo. Foram propostos dois métodos para o SC: o primeiro para o doseamento e o segundo para a triagem eletroquímica (sem a diluição) de SC. Os dois procedimentos foram desenvolvidos usando a célula 3D-MSEC, proposta no capítulo III, que foi impressa usando uma impressora 3D FDM. Neste capítulo seu uso foi explorado na quantificação de SC em amostras genuínas e ela também foi aplicada na triagem de SC falsificado obtido em parceria com a Polícia Civil de Belo Horizonte-MG.

4.2 Metodologia

4.2.1 Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas com um potenciostato/galvanostato μ Autolab (Metrohm[®]) conectado a um computador contendo o software GPES 4.9 para o registro das medidas. Foi utilizado um pHmetro digital mPA-210 (MS TecnoPON[®]) em conjunto com um agitador magnético HI 190M (Hanna Instruments[®]) para ajustar o pH dos eletrólitos. Para dissolução dos padrões foi utilizado um aparelho ultrassom USC-1800A (Unique[®]). A pesagem dos padrões e amostras foi realizada em uma balança analítica de quatro casas decimais modelo M214Ai (Web labor sp[®]). Para transferir os volumes foram utilizadas micropipetas manuais (Labmate Soft) e uma micropipeta eletrônica (Eppendorf[®]). Como eletrodo de trabalho foi utilizada uma folha de grafite (GS) e como eletrodos de pseudo-referência e auxiliar foi utilizado o filamento condutor CB-PLA integrados na tampa da célula eletroquímica miniaturizada impressa em 3D (seção 3.2.3 e seção 4.2.3).

4.2.2 Reagentes, amostras e soluções

No preparo das soluções foram utilizados reagentes de grau analítico e água deionizada (resistividade superior a 18 M Ω cm) obtida de um sistema de Osmose Reversa OS50 LX (Gehaka[®]). O tampão Britton-Robinson (BR) 0,04 mol L⁻¹, utilizado como eletrólito suporte durante as medidas voltamétricas, foi preparado pela mistura de ácido acético (Vetec[®]), ácido fosfórico (Acros Organics[®]) e ácido bórico (Dinâmica[®]). O ajuste do pH desejado foi realizado com hidróxido de sódio 2,0 mol L⁻¹ (Acros Organics[®]). Os reagentes utilizados na análise cromatográfica foram metanol (Dinâmica), acetonitrila (Dinâmica[®]) grau HPLC e ácido fosfórico 85% (Merck) e fosfato de potássio monobásico (Nuclear[®]).

Foram analisados os seguintes comprimidos contendo SC: Medicamentos de referência (Viagra[®], Pfizer) e genéricos (EMS, Eurofarma, Althaia, Medley, Neo Química e Sandoz), adquiridos em drogarias locais; Medicamentos contrabandeadas no Brasil (Procops[®], Indufar e Pramil[®], Novophar), adquiridos no Paraguai e comprimidos falsificados apreendidos, doados pela Polícia Civil de Belo Horizonte-MG.

Para a determinação de SC foi realizado o seguinte procedimento: dois comprimidos de cada amostra foram pesados, pulverizados em almofariz de ágata e armazenados em frasco escuro. A solução estoque do padrão citrato de sildenafil (SC)

foi preparado em água ultrapura de modo que a concentração final foi de $1,50 \cdot 10^{-3}$ mol L^{-1} . Posteriormente a solução foi levada ao ultrassom por 5 min, transferida para frasco âmbar e guardada sob refrigeração. A solução estoque de SC foi diluída no tampão BR (pH 4) para realizar as medidas voltamétricas.

4.2.3 Medidas voltamétricas

Para realizar as medidas eletroquímicas foram utilizadas as técnicas de VC, VOQ e VPD. Durante as medidas foi utilizada a célula 3D-MSEC usando uma impressora 3D FDM (Creality Ender-3, Shenzhen, China) e filamento ABS. A célula contém dois eletrodos de CB-PLA integrados em sua tampa atuando como pseudo-referência e auxiliar, e para construí-los foi utilizada uma caneta 3D (Kuman, Shenzhen, China) e o filamento condutivo CB-PLA (Protopasta[®], Protoplant, Washington, EUA). Como eletrodo de trabalho foi utilizada a folha de grafite (GS) obtida da Panasonic - Mouser Electronics (Mansfield, Texas) de espessura 25 μm , cortada em pequenos pedaços (1 x 1 cm) para a montagem na 3D-MSEC. O GS foi submetido a ativação catódica (-8 μA por 150 s) antes de cada medida para minimizar a adsorção de SC. De acordo com o fabricante o conteúdo de grafite na GS é superior a 99% (m/m).

O pó de cada droga (massa $\pm 1,0$ mg de amostra) foi espalhado sobre um papel de filtro ($\varnothing = 12,5$ cm). Em seguida, o pó foi amostrado de forma abrasiva sobre o sensor flexível e de baixo custo (GS) por meio de movimentos circulares com as mãos enluvasadas por 10 segundos. Os brancos foram realizados com o mesmo procedimento, porém com papel filtro limpo (superfície não contaminada com pó do analito). Após a coleta o sensor foi montado na 3D-MSEC e 500 μL do eletrólito suporte foram adicionados sobre a tampa para realização da detecção eletroquímica.

4.2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A análise foi realizada empregando um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu), composto de bomba binária e detecção por arranjo de diodos. A fase móvel foi composta de tampão fosfato 10 mmol L^{-1} (pH 2,3) e acetonitrila na proporção de 70:30 v/v. A fase móvel foi filtrada em membrana de acetato de celulose com poros de 0,2 μm (Waters, EUA) e desgaseificada em banho ultrassônico por 15 min. A separação foi realizada em uma coluna C18 (25 cm x 4.6 mm; 5 μm ; Luna, Phenomenex, Torrance, CA, USA). A vazão da fase móvel foi 1,0 mL min^{-1} . As amostras foram extraídas na proporção de 10 mg por mL de metanol em banho

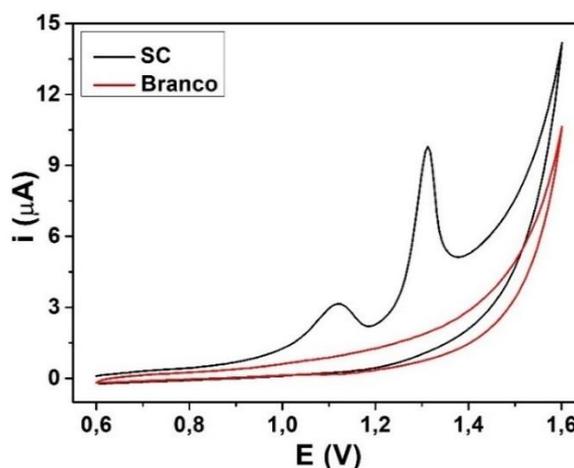
ultrassônico por 15 min. Foram obtidos espectros de varredura entre 200 e 400 nm, com monitoramento dos cromatogramas em 290 nm. O padrão SC foi preparado na concentração inicial de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ em metanol e permanecendo em banho ultrassônico por 15 min. O ensaio de linearidade foi realizado de $50\text{-}500 \mu\text{g mL}^{-1}$ empregando o método padrão externo. Após a retirada do solvente o processo foi repetido por duas vezes consecutivas. Após, os filtrados foram unidos e secos em capela de exaustão e ressuspensos em 1 mL de metanol.

4.3 Resultados e discussões

4.3.1 Perfil eletroquímico do SC na folha de grafite por voltametria cíclica

Inicialmente foram realizadas medidas com SC por voltametria cíclica para conhecer o perfil eletroquímico desse analito na superfície da GS em tampão Britton-Robinson (BR) pH 4, bem como a reversibilidade do sistema. Conforme é mostrado na Figura 37, o SC exibe dois picos anódicos em aproximadamente +1,1 e +1,3 V e na varredura reversa não é observado nenhum pico de redução, o que é característico de um sistema irreversível. Este perfil voltamétrico corrobora com o obtido em outros eletrodos de carbono (p.ex. GCE, BDD e C-SPE)^{130,138,146,157}.

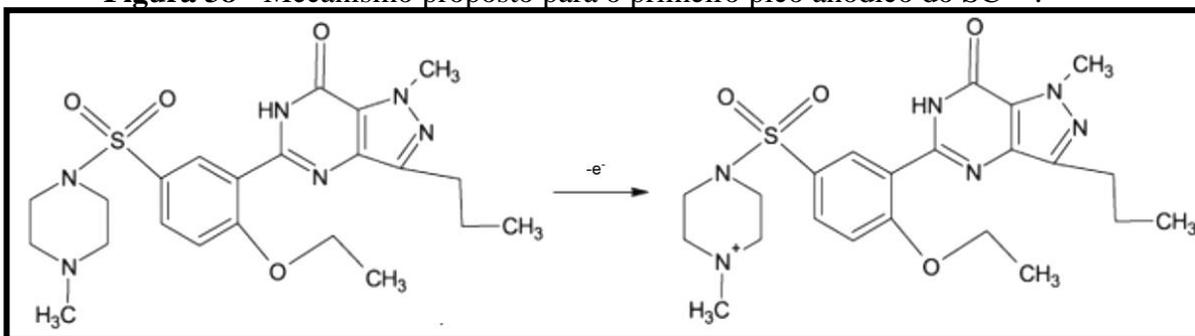
Figura 37 - Voltamogramas cíclicos registrados na presença e na ausência de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ na superfície de GS em TBR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4). Condições: $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Na literatura é proposto um mecanismo que sugere que o primeiro pico anódico está relacionado a oxidação do anel piperazínico (Figura 38) e o segundo pico do SC corresponde a adsorção-dessorção do produto gerado do primeiro processo na superfície do GS^{25,138,146,148}. Entretanto, também é sugerido que o segundo pico anódico pode estar

relacionado com a hidroxilação do anel aromático presente no grupo p-alcoxibenzenosulfonamida^{25.0}

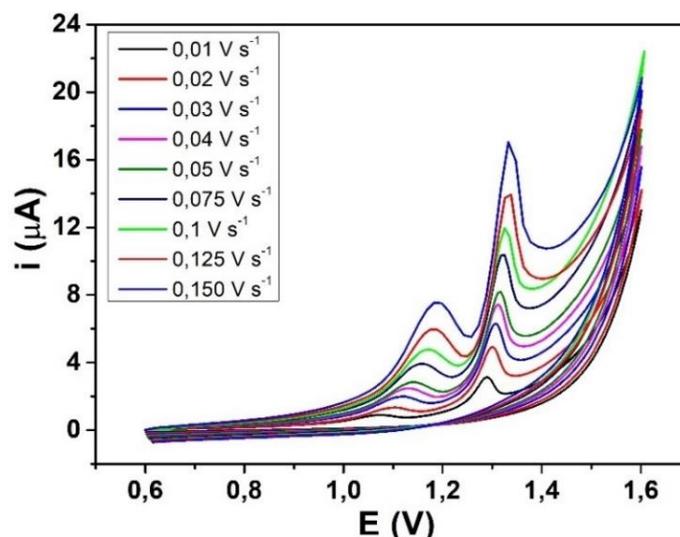
Figura 38 - Mecanismo proposto para o primeiro pico anódico do SC¹⁴⁸.



4.3.2 Estudo da velocidade de varredura

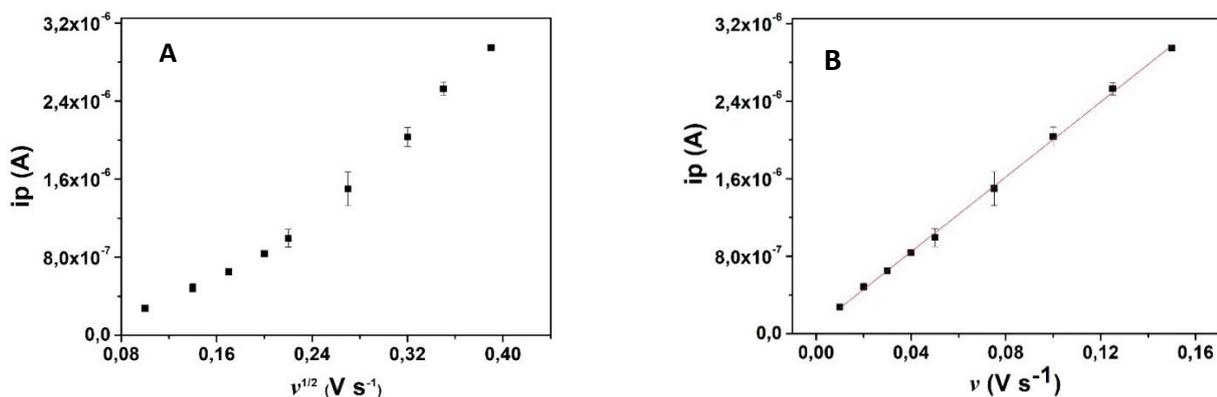
A influência da velocidade de varredura no sinal do SC é um estudo que fornece informações a respeito do transporte de massa e sobre a reversibilidade da reação eletroquímica¹⁵⁸. Os voltamogramas cíclicos obtidos para as diferentes velocidades de varredura (10 a 150 mV s^{-1}) estão apresentados na Figura 39. É possível observar que a corrente de pico (i_{pa}) aumentou gradualmente com o aumento da velocidade de varredura. Além disso, o potencial de pico (E_{pa}) foi levemente deslocado no sentido positivo com o aumento da velocidade de varredura, um comportamento característico de sistemas irreversíveis.

Figura 39 - Voltamogramas cíclicos registrados na presença de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ no intervalo de 10 a 150 mV s^{-1} em meio de tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4).



Para um transporte de massa controlado por adsorção observa-se uma relação linear entre a i_p e a velocidade de varredura (v), entretanto para um processo controlado por difusão a linearidade é encontrada no gráfico da i_{pa} em função da raiz quadrada da v^9 . Por meio da Figura 40 é possível compreender qual processo ocorre na interface eletrodo/solução, visto que a relação linear é em função da v conforme mostra a Figura 40B ($R= 0,998$). Este comportamento indica que o transporte de massa do SC é limitado pela adsorção de SC na superfície do GS.

Figura 40 – Relação entre i_p vs $v^{1/2}$ (A) e i_p vs v (B) para a oxidação eletroquímica de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ na superfície de GS em meio de tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4).

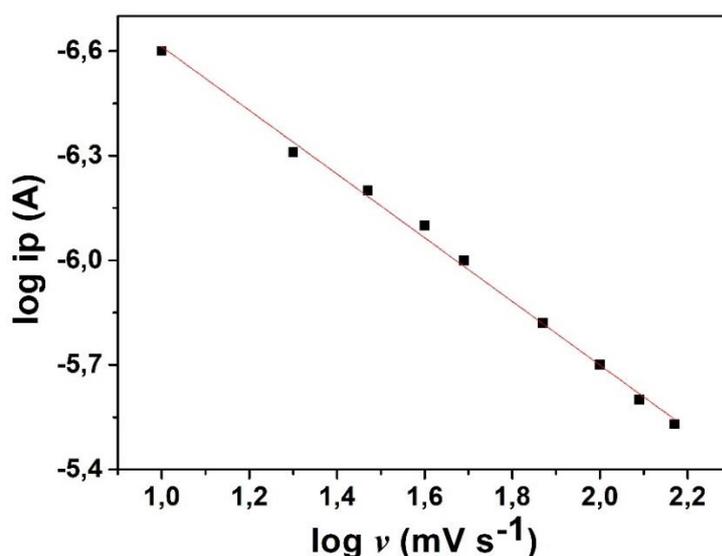


Outra forma de verificar o transporte de massa de SC até a superfície do GS é pelo gráfico do $\log i_{pa}$ vs $\log v$. Por meio do coeficiente angular dessa relação linear é possível identificar a natureza do transporte de massa do sistema. Se o valor da

inclinação for próximo de 0,5 corresponde a um processo difusional ou se o coeficiente for próximo de 1,0 o processo é adsorptivo, e para valores entre 0,5 e 1,0, o transporte de massa é misto, sendo controlado por adsorção e difusão¹⁵⁸.

Na Figura 41 é apresentado o gráfico $\log i_{pa}$ vs $\log \nu$ obtido para SC. O coeficiente de correlação linear obtido foi 0,996 e o coeficiente angular de 0,91. Assim, como a inclinação foi próximo a 1, conclui-se novamente que o transporte de massa é controlado preferencialmente por adsorção.

Figura 41 - Relação entre $\log i_{pa}$ vs $\log \nu$ para a oxidação de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ na superfície de GS em meio de tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4).



Os demais estudos foram conduzidos usando técnicas de pulsos, já que possuem maior sensibilidade do que a voltametria cíclica⁴⁹.

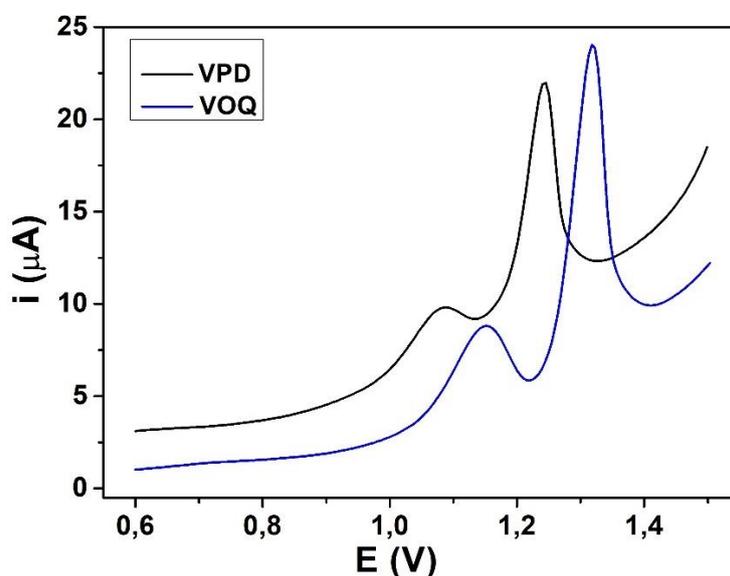
4.3.3 Detecção eletroquímica do SC por diferentes técnicas voltamétricas de pulso

A escolha da técnica eletroquímica é uma etapa que determina a melhor detectabilidade do analito em estudo e na sensibilidade da metodologia. As técnicas voltamétricas escolhidas foram a voltametria de onda quadrada (VOQ) e de pulso diferencial (VPD), essas técnicas foram desenvolvidas por Barker e Gardner, na década de 50, especialmente para reduzir a contribuição da corrente capacitiva^{49,159,160}. Todas as técnicas de pulso são fundamentadas na cronoamperometria, ou seja, a medida da corrente elétrica em função do tempo após a aplicação do pulso de potencial^{49,161}. As técnicas de pulso apresentam melhor detectabilidade e sensibilidade, pois apresentam

melhor discriminação entre a corrente capacitiva e a faradaica¹⁶². Como consequência, apresentam melhor limite de detecção e quantificação^{161,163}.

Os voltamogramas registrados para este estudo estão presentes na Figura 42. Como era esperado as técnicas pulsadas (VOQ e VPD) apresentaram sinais intensos e com boa definição para o SC. Tanto a VOQ como a VPD executam a dupla amostragem da corrente, ou seja, são altamente sensíveis¹⁶³.

Figura 42 – Voltamogramas registrados em diferentes técnicas para eletrooxidação de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ frente ao GS em meio de tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4. Condições: VPD $t_{\text{modulação}} = 0,05 \text{ s}$, intervalo de tempo = $0,50 \text{ s}$, $E_s = 5 \text{ mV}$ e $E_a = 100 \text{ mV}$ e $E_s = 5 \text{ mV}$ e para VOQ ver Figura 42.



A Tabela 7 apresenta mais informações dos resultados registrados para SC na VOQ e VPD. É possível observar que a VPD proporcionou menor potencial de pico, menor separação de pico e corrente de pico menos intensas quando comparada com os resultados com a VOQ. Além disso, os picos na VOQ apresentaram melhor definição do que a VPD. Além disso, a VOQ é mais sensível do que a VPD, pois as correntes direta e reversa são registradas em uma única etapa chamada de corrente resultante^{49,159}. O limite de detecção obtido pela VOQ pode ser comparado ao LOD das técnicas cromatográficas e espectroscópicas⁴⁹. Por isso, a VOQ foi selecionada para o prosseguimento dos estudos, visto que alia alta sensibilidade à maior velocidade de varredura^{160,161,164}.

Tabela 7 - Correntes de pico e potenciais de pico obtidos para SC na 3D-MSEC em diferentes técnicas voltamétricas.

	Correntes de pico (μA)	Potencial de pico (V)	Separação de pico (mV)
VOQ	2,30 (i_{pa1})	1,13	180
	15,3 (i_{pa2})	1,31	
VPD	1,74 (i_{pa1})	1,08	160
	11,4 (i_{pa2})	1,24	

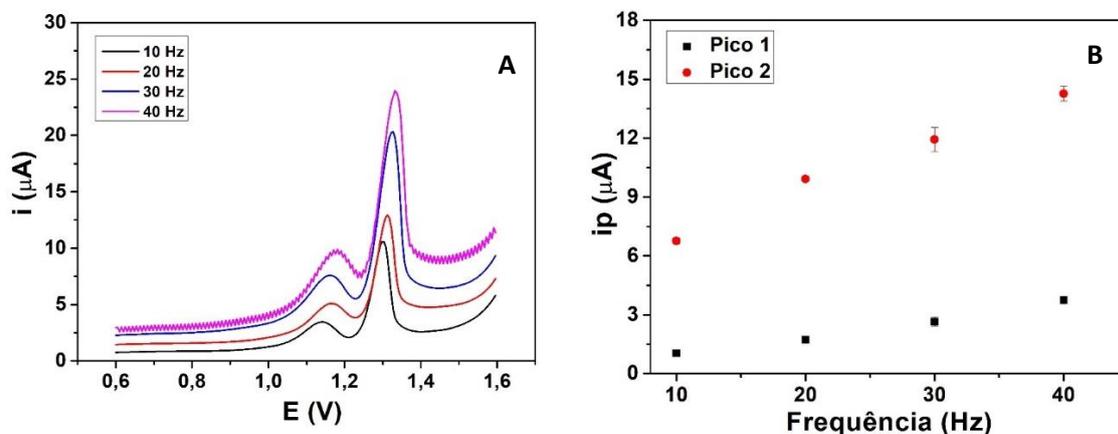
4.3.4 Otimização dos parâmetros da VOQ

O estudo das variáveis da VOQ é uma etapa imprescindível na determinação de SC, visto que estas influenciam na intensidade e no perfil do sinal voltamétrico do analito. Os parâmetros estudados foram a frequência (f), amplitude (E_a) e o incremento de potencial (E_s).

O primeiro parâmetro estudado foi a frequência no intervalo de 10 – 40 Hz, esta variável influencia na intensidade do pico do analito e conseqüentemente na sensibilidade do método⁴⁹. Os voltamogramas são apresentados na Figura 43A a seguir, pode-se observar que a partir de 40 Hz há muito ruído nas medidas e o E_{pa} é deslocado para potenciais próximo da descarga do eletrólito. Além disso, a separação de pico diminuiu com o aumento da frequência.

A Figura 43B mostra a relação da intensidade do sinal do analito em função da variação da frequência aplicada. A frequência selecionada para o desenvolvimento da metodologia foi 20 Hz, pois apresentou boa intensidade de sinal, separação de pico satisfatória (180 mV) e E_p em potencial menos positivo. O estudo da frequência também fornece informações a respeito da reversibilidade do sistema. Como pode ser visto na Figura 43B a frequência variou linearmente com a i_{pa} , este comportamento é típico de sistemas irreversíveis⁴⁹.

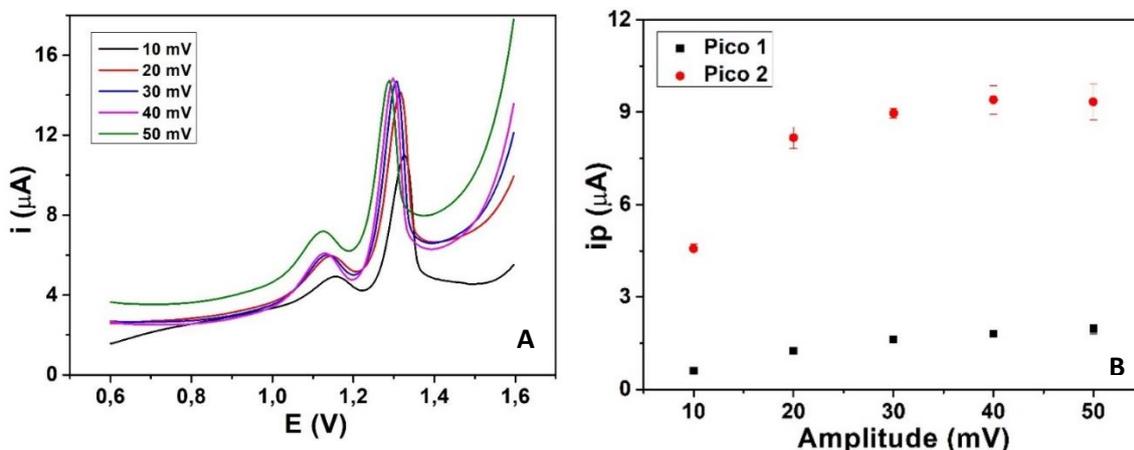
Figura 43 - Voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes frequências na presença de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4 (A) e correntes de pico obtidas (B). Condições: $E_a = 25 \text{ mV}$ e $E_s = 5 \text{ mV}$.



Na sequência foi conduzido um estudo sobre a influência da variação da amplitude do pulso de potencial na corrente de pico do SC no intervalo de 10 – 50 mV. Os voltamogramas resultantes da análise estão presentes na Figura 44A a seguir. Por meio desse resultado observa-se que o aumento da amplitude desloca o E_{pa} para potenciais menos positivos, este comportamento indica que a reação redox é irreversível. Outra característica relevante é o alargamento do pico proporcionado pelo aumento da amplitude, isto implica na perda de seletividade¹⁶⁵.

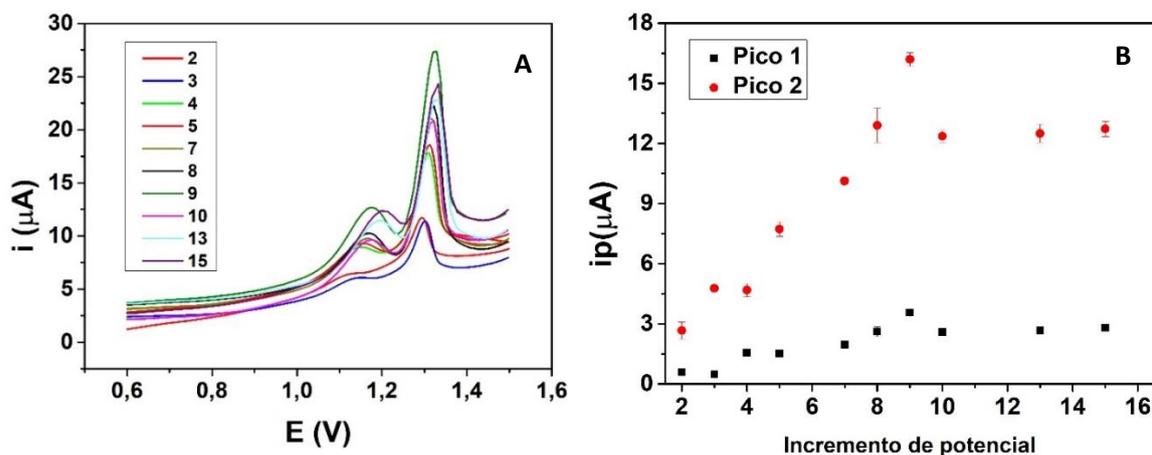
Na Figura 44B é apresentada a dependência entre i_p e amplitude, é notório que a i_{pa} aumenta até amplitude de 30 mV e depois mantém-se praticamente constante até 50 mV. Sendo assim o valor de 30 mV foi escolhido, pois proporcionou melhor sensibilidade para a oxidação eletroquímica de SC.

Figura 44 - Voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes amplitudes na presença de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4 (A) e correntes de pico obtidas (B). Condições: $f = 20 \text{ mV}$ e $E_s = 5 \text{ mV}$.



O último parâmetro analisado foi o efeito do incremento de potencial de varredura na i_{pa} de SC no intervalo de 2 – 15 mV e os resultados estão presentes na Figura 45. Analisando-se os dados verifica-se que a variação do incremento de varredura provoca o aumento exponencial da i_{pa} até 9 mV. Após esse valor a i_{pa} diminuiu e se manteve constante até 15 mV, provavelmente a cinética do transporte de massa do SC até a superfície do GS foi mais lenta que a velocidade do registro de corrente. Para o prosseguimento da metodologia foi selecionado o valor de 9 mV, visto que proporcionou um aumento significativo da i_{pa} do SC.

Figura 45 - Voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes incrementos de varredura na presença de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4 (A) e correntes de pico obtidas (B). Condições: $f = 20 \text{ mV}$ e $E_a = 30 \text{ mV}$.



4.3.5 Estudo da ativação eletroquímica do GS

Foi conduzido um estudo para verificar a influência da ativação eletroquímica no sinal do SC, visto que na literatura este procedimento é amplamente utilizado para melhorar o desempenho voltamétrico dos eletrodos a base de carbono¹⁰³. Dessa forma, o GS foi submetido a diferentes ativações eletroquímicas: ativação anódica (+8 μA por 30 s), ativação catódica (-8 μA por 90 s). A ativação eletroquímica foi realizada no tampão BR pH 4 antes de cada medida na ausência do analito.

Na Figura 46 estão presentes as correntes de pico anódicas obtidas para SC frente as diferentes ativações do GS. Por meio dos resultados obtidos pode-se concluir que a inclusão da etapa de ativação eletroquímica não proporcionou ganho significativo de correntes de pico de SC em relação ao resultado sem ativação eletroquímica (S.A.). Entretanto, conforme apresentado na Figura 47, as menores correntes residuais (medidas em eletrólito após a medida com SC 1,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram obtidas empregando a ativação catódica (-8 μA por 150 s). Deste modo, esta ativação catódica eliminou efeitos de memória após as varreduras na presença de SC, esta foi incorporada na metodologia.

Figura 46 – Voltamogramas de onda quadrada (A) e respectivas correntes de pico (B) obtidas para SC 1,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sob as diferentes ativações do GS. Condições VOQ: tampão BR 0,040 (pH 4), $f = 20$ Hz, $E_a = 25$ mV e $E_s = 5$ mV.

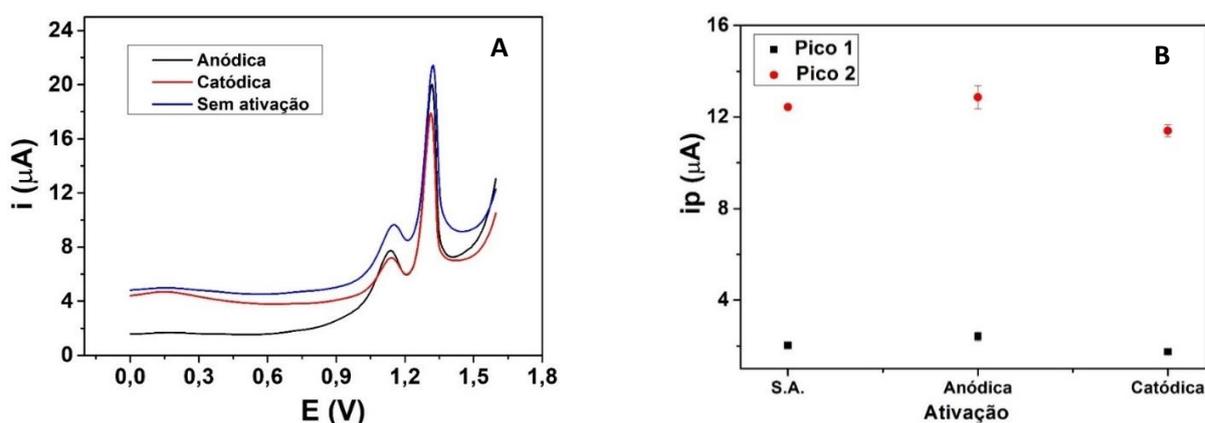
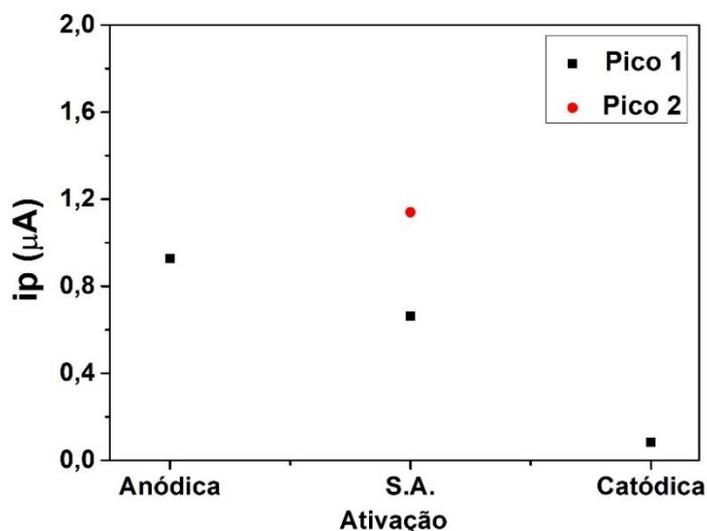


Figura 47 – Comparação das correntes residuais registradas após as medidas na presença de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ incluindo a etapa de ativação ou sem ativação (S.A.) do GS. Condições VOQ: tampão BR 0,040 (pH 4), $f = 20 \text{ Hz}$, $E_a = 25 \text{ mV}$ e $E_s = 5 \text{ mV}$.



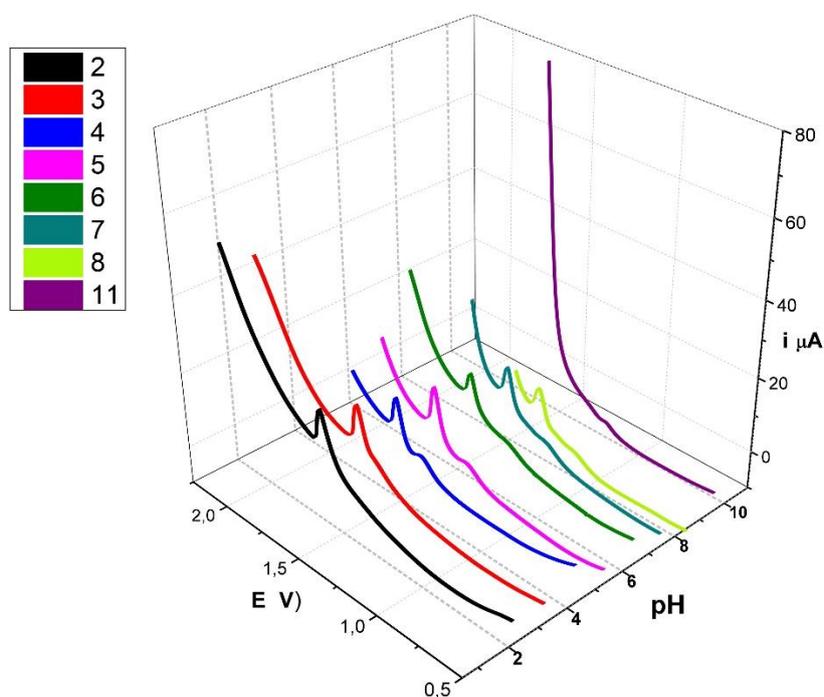
4.3.6 Influência do pH do eletrólito suporte

Foi conduzido um estudo para avaliar a oxidação eletroquímica de SC em função da concentração hidrogeniônica (pH), pois esta variável influencia na detecção voltamétrica de compostos orgânicos^{162,166}. A influência do pH na eletroanálise de SC foi investigada usando o tampão universal Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ em distintos pHs (2 a 11). Neste estudo, foi utilizado eletrodo de referência de $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{\text{sat.}}$. É relevante que o eletrólito seja adequadamente tamponado, visto que íons H^+ estão envolvidos na reação de oxidação de SC¹⁶². O resultado obtido nesse estudo está apresentado na Figura 48.

Por meio da Figura 48, observa-se que o E_{pa} se desloca para potenciais menos positivos à medida que aumenta o pH do eletrólito. Este comportamento indica que o aumento da acidez torna a reação eletroquímica do SC na superfície do GS mais difícil¹⁶². Outro fato de extrema relevância é a ausência de sinal do composto em meio mais básico, isso ocorre devido o sinal do SC corresponder a oxidação do anel piperazínico que se encontra protonado abaixo do pK_a (5,6)¹⁶⁷. É importante ressaltar que nos pHs 2 e 3, apenas o primeiro sinal do SC é observado na janela de potencial, provavelmente o segundo pico referente a adsorção-dessorção foi deslocado para potencial maior.

Também é possível observar (Figura 48) que a corrente de pico é mais intensa nos pHs 2 e 3, visto que existem mais espécies protonadas no meio mais ácido. Não obstante o potencial de pico está muito próximo da descarga do eletrólito. Já a partir do pH 4 pode-se observar os dois sinais referentes a oxidação do SC. O meio menos ácido (menor concentração de H^+ do que os pHs 2 e 3) proporcionou o adiantamento da reação eletroquímica¹⁶² e possibilitou a visualização do pico 2. Por isso, o pH 4 foi escolhido para o prosseguimento dos estudos, já que proporciona a visualização dos dois picos do SC.

Figura 48 - Voltamogramas de onda quadrada registrados na presença de SC $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ em distintos pHs (2 a 11). Condições: $f = 20 \text{ Hz}$, $E_a = 30 \text{ mV}$ e $E_s = 5 \text{ mV}$.



4.3.7 Parâmetros de confiabilidade analítica para detecção de SC

Após estabelecer os melhores parâmetros experimentais e instrumentais para a determinação de SC, os parâmetros de confiabilidade analítica do método foram investigados. Para isso, foi verificada a dependência entre as correntes de pico em função do aumento da concentração de SC na célula, no intervalo de $0,0070 - 1,280 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os respectivos voltamogramas e as curvas de calibração são

apresentados na Figura 49. A partir destas curvas os parâmetros de confiabilidade analítica foram calculados (Tabela 8).

Por meio da Tabela 8, observa-se que a metodologia proporcionou uma faixa linear para SC apenas em baixas concentrações ($0,0070$ a $1,280 \mu\text{mol L}^{-1}$). Provavelmente, a perda da linearidade acima de $1,280 \mu\text{mol L}^{-1}$ ocorreu devido a saturação da superfície do eletrodo causada pela adsorção do SC na superfície da folha de grafite em concentrações maiores. Porém, devido ao baixo LOD à menor concentração detectada ($0,0070 \mu\text{mol L}^{-1}$), conclui-se que é possível detectar o SC em baixas concentrações (ordem de nmol L^{-1}).

Figura 49 - Curvas VOQ obtidas na 3D-MSEC com eletrodo GS para SC na faixa de concentração de $0,0$ a $1,280 \mu\text{mol L}^{-1}$ e respectivas curvas de calibração (inserção). Condições: $f = 20 \text{ mV}$, $E_s = 9 \text{ mV}$, $E_a = 30 \text{ mV}$ e tampão BR $0,040 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4).

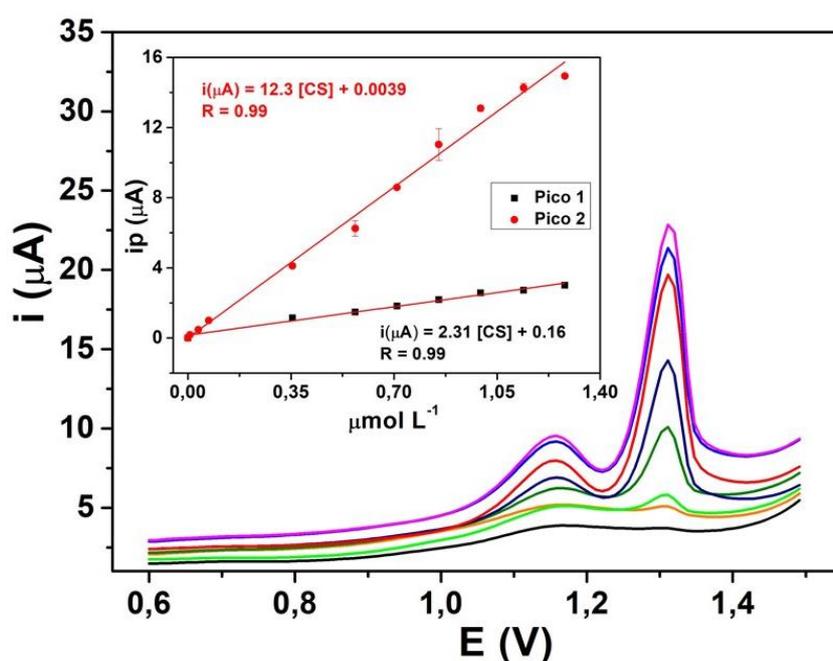


Tabela 8 - Parâmetros de méritos obtidos para a determinação de SC sobre a superfície de GS na VOQ.

Parâmetros	Pico 1	Pico 2
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,0 – 1,280	0,0 – 1,280
Sensibilidade ^a ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	2,31 ($\pm 0,1$)	12,3 ($\pm 0,3$)
Coeficiente de correlação (R)	0,99	0,99
LOD ^b ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,089	0,016
LOQ ^c ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,27	0,051

^aSensibilidade (inclinação da curva de calibração). ^bLOD: Limite de detecção, calculado como $3 \times \text{SD}_B / S$, em que SD_B é o desvio padrão de cinco soluções em branco (eletrólito). ^cLOQ: limite de quantificação calculado como $10 \times \text{SD}_B / S$.

A Tabela 9 apresenta a comparação entre metodologias eletroquímicas desenvolvidas para a determinação de citrato de sildenafil. Como pode ser visto, a sensibilidade obtida com GS é maior do que a encontrada com outros eletrodos de trabalho a base de carbono. Não obstante, os eletrodos com substrato de diamante exibiram a maior sensibilidade para o SC do que o GS. O valor do limite de detecção obtido com o GS está entre os mais baixos LOD citados na literatura. Em relação a faixa linear, o intervalo mensurado é comparável ao encontrado por outros pesquisadores. Vale enfatizar, que os resultados foram obtidos com o GS que é um material alternativo, de baixo custo e sem modificação.

Tabela 9 - Comparação de métodos eletroquímicos encontrados na literatura para a determinação de citrato de sildenafila.

Sensor (Técnica)	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
GCE ^a (VOQ)	4,0 – 300	0,019	1,11	Özkan <i>et al.</i> ¹⁴⁶
GCE (VPD)	4,0 – 300	0,016	1,05	Özkan <i>et al.</i> ¹⁴⁶
SPE-C ^b (MPAD)	3,0 – 21,0	0,188	0,0520	Backes <i>et al.</i> ¹³⁸
SPE-C (MPAD)	2,5 – 20,0	0,108	0,215	Backes <i>et al.</i> ¹³⁸
SPCE ^c (DPV)	2.10^{-3} – 0,2	0,016	$5,9.10^{-4}$	Sasal <i>et al.</i> ¹⁶⁸
GCE (DPV)	11,0 – 95,0	0,0105	3,5	Baranowska <i>et al.</i> ¹⁵⁷
LF/GCE ^d	0,01 – 0,15	$5,310^{-3}$	$4,5.10^{-3}$	Tyszczyk <i>et al.</i> ¹⁶⁹
DPBE ^f (VOQ)	1.10^{-6} - 0,01	778,6	1.10^{-7}	Staden <i>et al.</i> ¹⁷⁰
BDD (VPD)	0,73 – 7,3	47	0,74	Batista <i>et al.</i> ¹⁷¹
GS	7.10^{-3} - 1,28	2,31	0,089	Este trabalho

^aEletrodo de carbono vítreo. ^bEletrodo impresso de carbono. ^dEletrodo de carbono vítreo modificado com filme de chumbo. ^fEletrodo a base de pasta de diamante.

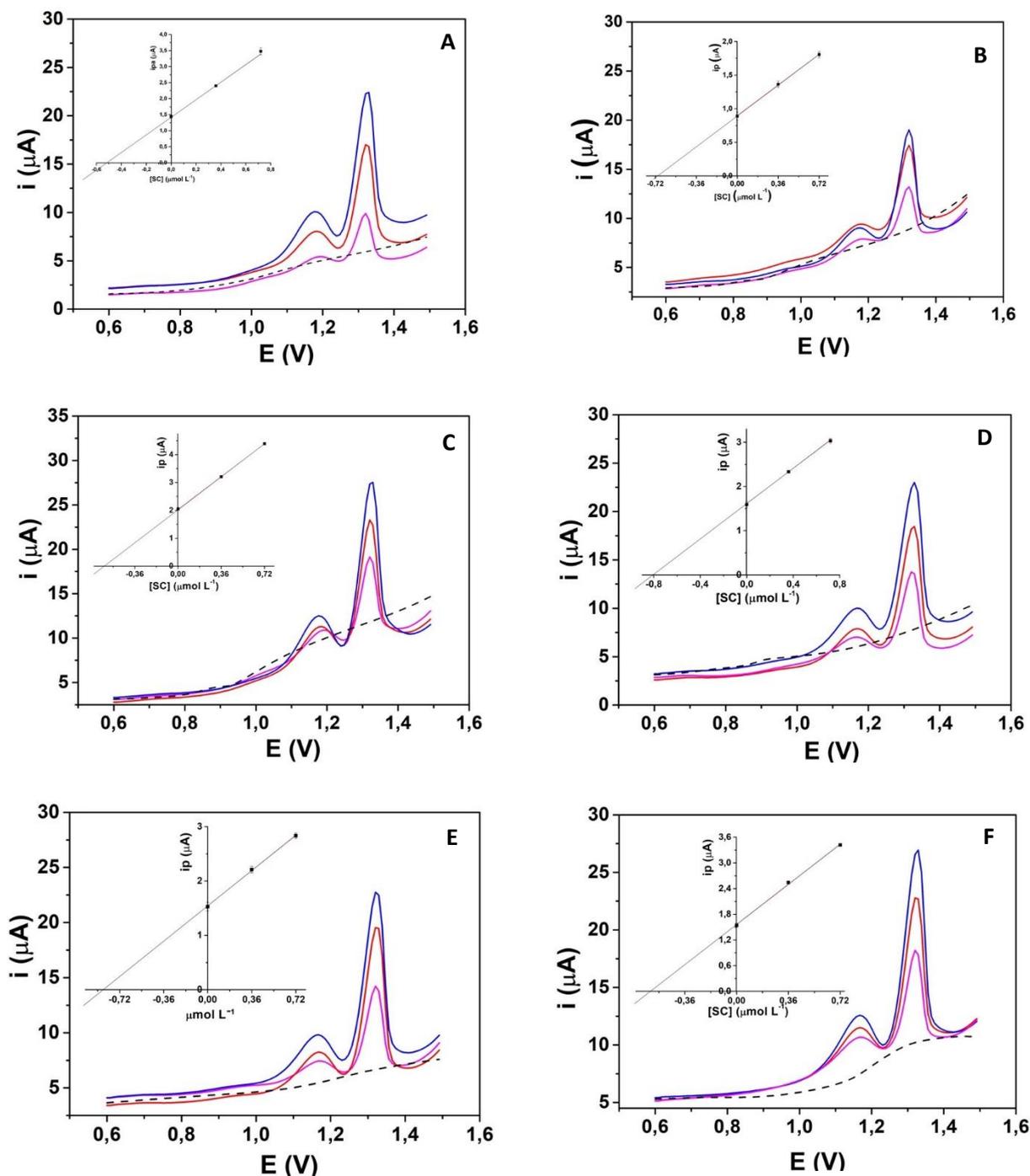
4.3.8 Determinação de SC em formulações farmacêuticas e em HPLC

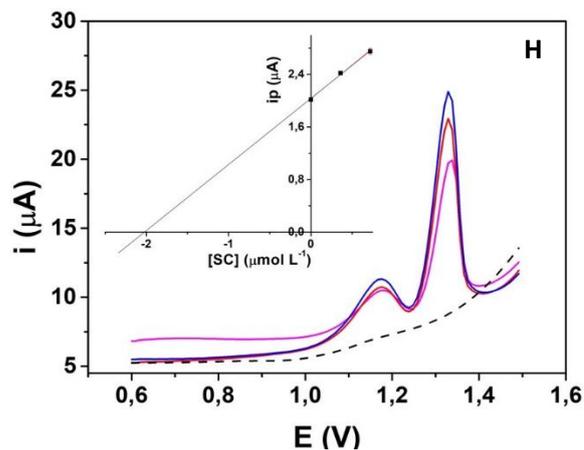
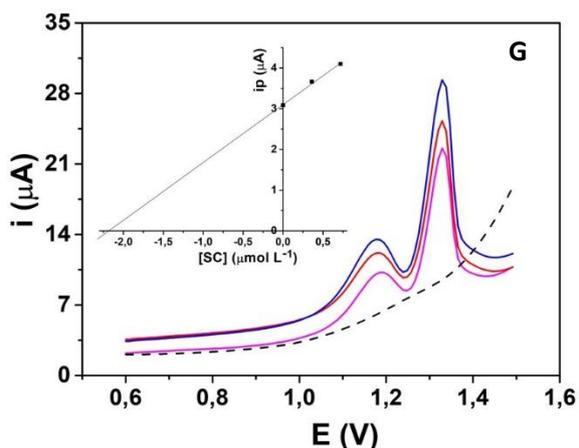
A metodologia proposta neste trabalho, usando a 3D-MSEC, foi aplicada na quantificação de SC em amostras farmacêuticas brasileiras (A - F) e duas do Paraguai (G e H). Para isso, foi realizada a inserção da amostra na célula seguida de duas adições da solução estoque de SC e o analito foi quantificado pelo método da curva de adição de padrão. Para comparação as amostras também foram analisadas em HPLC usando como fase móvel o tampão fosfato 10 mmol L^{-1} (pH 2,3) e a acetonitrila (70:30 v/v). Nestas condições, tempo de retenção para SC foi de 8,85 min.

Os resultados voltamétricos, obtidos para seis fármacos do Brasil e dois medicamentos do Paraguai, são apresentados na Figura 50 abaixo. Analisando os dados

obtidos, observa-se que houve uma boa correlação linear entre as correntes de pico e a concentração de CS ($R^2 > 0,98$).

Figura 50 – Curvas de VOQ para as soluções das amostras de Viagra[®] e genéricos, (linha rosa) seguida de duas adições de solução padrão de SC (linhas vermelha e azul) e respectivas curvas de adição de padrão (inserção). Condições iguais à Figura 49.





Os doseamentos de SC por comprimido obtidos por VOQ (curvas de adição de padrão) estão inseridos na Tabela 10. Além disso, também foram inclusos os valores encontrados por HPLC. Como pode ser visto, os valores calculados de F (F_{calc}) foram inferiores ao crítico, demonstrando que o método proposto apresenta precisão semelhante quando comparado ao método cromatográfico em um nível de confiança de 95%. Para o teste t , o t calculado (t_{calc}) foi inferior ao valor t crítico, confirmando que não houve diferença significativa entre os resultados de ambos os métodos ao nível de confiança de 95% para as amostras A, B, C e H.

Tabela 10 - Comparação entre os teores de SC por comprimido obtidos por VOQ e HPLC na determinação de SC usando 3D-MSEC e GS.

Teor de SC (mg por comprimido)				
Amostra	Rótulo (mg)	VOQ^a	HPLC^a	E (%)^b
A	50	59,9 (±0,1)	60,4 (±0,02)	0,8
B	50	80,6 (±0,3)	80,5 (±0,5)	0,1
C	50	62,0 (±0,6)	62,5 (±0,02)	0,8
D	50	77,1 (±0,1)	77,4 (±0,07)	0,4
E	50	83,3 (±0,3)	87,2 (±0,07)	4,0
F	50	58,2 (±0,2)	58,6 (±0,03)	0,7
G	50	356,2 (±0,3)	355,1 (±0,1)	0,3
H	50	66,1 (±0,1)	66,2 (±0,07)	0,2

^aMédia de 3 medições ±SD; ^bE (%) = (método cromatográfico - método voltamétrico/método cromatográfico) × 100; $F_{\text{calc}} (S_{\text{cromat}}^2/S_{\text{Volt}}^2)$. Valor crítico F = 19 (nível de confiança de 95%; n = 3); Valor crítico t = 2,920 (95% confidence level; n = 3). Amostra A: $F_{\text{cal}} = 5,25$; $t_{\text{calc}} = 2,8$; Amostra B: $F_{\text{cal}} = 2,33$; $t_{\text{calc}} = 0,0877$; Amostra C: $F_{\text{cal}} = 0,105$; $t_{\text{calc}} = 2,135$; Amostra D: $F_{\text{cal}} = 0,333$; $t_{\text{calc}} = 4$; Amostra E: $F_{\text{cal}} = 0,0357$; $t_{\text{calc}} = 21,355$; Amostra F: $F_{\text{cal}} = 0,111$; $t_{\text{calc}} = 3,478$; Amostra G: $F_{\text{cal}} = 0,120$; $t_{\text{calc}} = 6,047$ e Amostra H: $F_{\text{cal}} = 0,333$; $t_{\text{calc}} = 0,5$.

4.3.9 Emprego da 3D-MSEC na triagem eletroquímica de citrato de sildenafila em amostras apreendidas

Neste trabalho a célula eletroquímica impressa em 3D miniaturizada (3D-MSEC) foi desenvolvida e aplicada para análise qualitativa (Seção 3.3.3) e quantitativa (Seção 3.3.4 e 4.3.8) de medicamentos. A célula eletroquímica (3D-MSEC) é versátil, de baixo custo, fácil de usar, usa baixo volume de eletrólito e é compatível com qualquer sensor planar. Na Seção 3.3.3, eletrodos baratos e flexíveis acoplados à célula 3D-MSEC foram utilizados para amostragens diretas em medicamentos sólidos (forma padrão e farmacêutica) e detecção voltamétrica. Por meio deste estudo foi possível observar os mesmos picos voltamétricos nos medicamentos e respectivos padrões analíticos, levando a conclusão que havia nas amostras apenas o mesmo composto eletroativo em ambos.

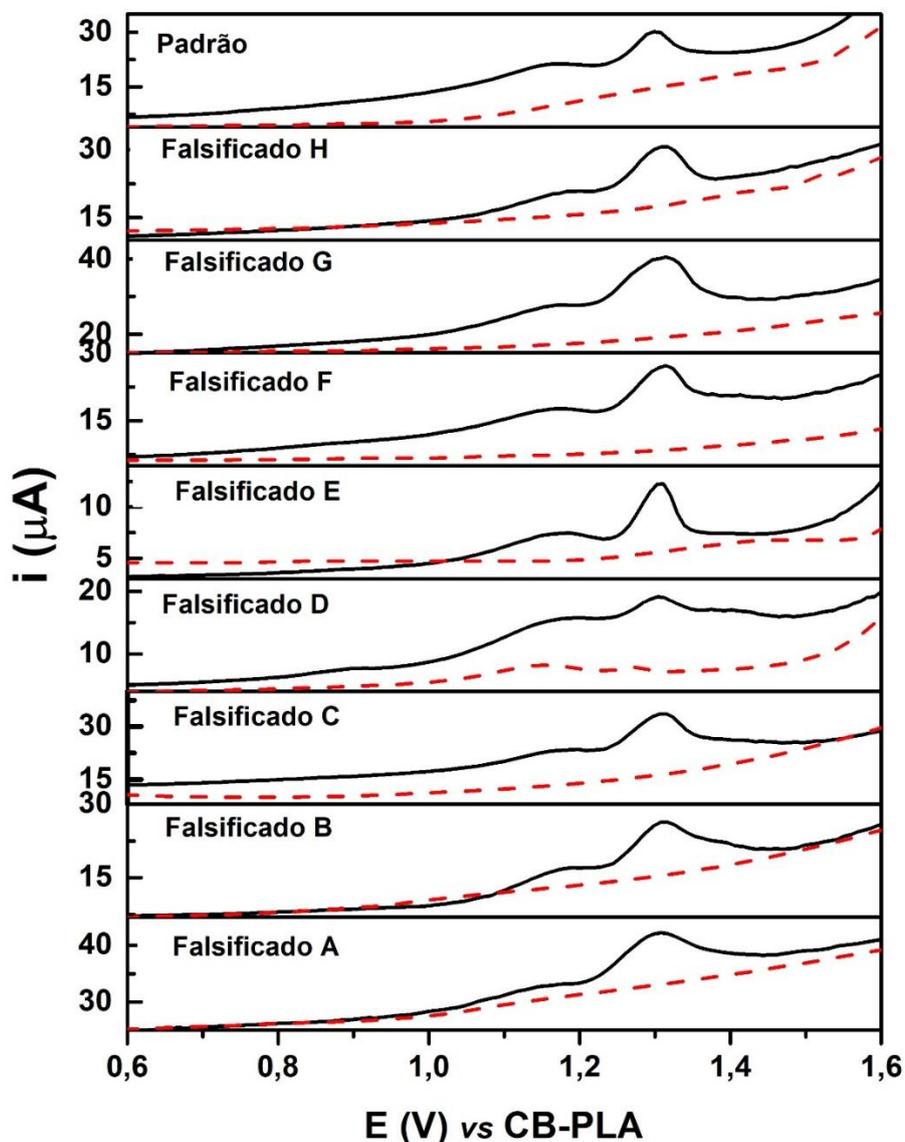
Neste tópico uma mesma abordagem será adotada, porém utilizando o sensor de folha de grafite e a célula 3D-MSEC para a triagem eletroquímica de citrato de

sildenafil em medicamentos falsificados obtidos em parceria com a Polícia Civil de Belo Horizonte-MG, sendo cinco de origem brasileira (A - E) e três contrabandeadas do Paraguai (F – H). O procedimento da triagem consistiu na abrasão do pó de cada droga (sólido pulverizado) sob o sensor flexível de GS. Após essa amostragem o sensor impregnado com o pó foi montado na célula 3D-MSEC e foi realizada a medida eletroquímica em tampão BR 0,040 mol L⁻¹ (pH 4) (Figura 21). Este eletrólito foi escolhido, visto que proporcionou o melhor sinal para SG (Seção 4.3.6). Os voltamogramas por VOQ registrados nestes medicamentos falsificados usando a 3D-MSEC e o GS estão na Figura 51.

Para todas as amostras falsificadas foram selecionados somente o primeiro voltamograma das amostragens devido à queda abrupta das correntes de picos ocasionada pela diluição gradual das espécies da superfície do ET para o meio da solução (Figura 34A). Em todos os resultados das oito amostras apreendidas é possível observar os sinais que são referentes a presença do SC na formulação. Esses sinais encontram-se em 1,15 V e 1,30 V.

No entanto, nos voltamogramas das amostras falsificadas B e D observa-se picos deformados na eletroanálise. Para o Falsificado B, o primeiro pico apresenta i_{pa} maior que o segundo pico, sendo que no sinal característico de SC ocorre o inverso. Esse aumento da i_{pa} no pico um pode indicar a contribuição de outra espécie eletroativa na composição. Já no Falsificado D, há um discreto sinal sobreposto ao pico dois do SC. Como este perfil voltamétrico não é característico do SC, conseqüentemente suspeita-se da presença de contaminantes nessa formulação.

Figura 51 – Voltamogramas de onda quadrada registrados na presença (linha preta) e na ausência (linha vermelha) dos medicamentos falsificados após a abrasão do pó sobre o sensor GS. Condições iguais à Figura 49.



Os resultados obtidos usando a 3D-MSEC na amostragem dos medicamentos ilícitos demonstraram que a célula é promissora para triagem eletroquímica de amostras apreendidas, já que forneceu os sinais característicos do SC, bem como sugerindo a presença de outras espécies eletroativas. Essas características são coerentes com as predefinições de um teste qualitativo, que devem mostrar indício da presença do API e pode fornecer a evidência de adulterantes na composição²⁴. Porém, a realização deste teste de triagem com a 3D-MSEC não excluiria a realização das demais etapas recomendadas pela OMS^{24,29} para amostras duvidosas (por exemplo nas amostras B e

D), almejando uma determinação mais confiável da composição (por exemplo por métodos HPLC-MS). A 3D-MSEC é promissora para ser empregada para a triagem de amostras suspeitas de modo rápido, prático e no local da apreensão, assim contribuindo para uma apreensão instantânea desses medicamentos e aceleração de aplicação das sanções penais aos contrabandistas.

4.4 Conclusões

Os resultados apresentados neste capítulo demonstram a aplicação da 3D-MSEC no desenvolvimento de uma metodologia para a determinação de SC em medicamentos brasileiros e paraguaios. De acordo testes estatísticos (t e F), as dosagens de SC encontradas nos medicamentos citados foram equivalentes às encontradas pelo método HPLC, o que indica a boa exatidão da metodologia proposta.

A 3D-MSEC também foi aplicada na análise de oito amostras falsificadas cedidas pela Polícia Civil de Belo Horizonte-MG. A triagem dessas amostras consistiu na coleta do pó sobre a superfície do GS por abrasão, seguida da montagem do CS na célula 3D-MSEC e detecção voltamétrica. Os voltamogramas registrados mostraram a presença de SC nas amostras apreendidas e também a presença de outros compostos eletroativos. O conjunto 3D-MSEC e GS demonstraram viabilidade para ser empregado como um teste rápido e portátil para a triagem eletroquímica de SC em amostras suspeitas, uma vez que detecta a presença ou ausência do fármaco, bem como a presença de adulterantes de forma rápida com apenas uma varredura.

Capítulo V: Conclusão geral

Nesta tese explorou-se o uso da impressão 3D FDM na eletroanalítica, uma abordagem recém investigada para a fabricação de células e sensores eletroquímicos. Esta tecnologia foi empregada para desenvolver métodos rápidos e portáteis para a triagem e determinação de fármacos com histórico de contrabando, falsificação e adulteração no Brasil em comprimidos farmacêuticos legais e ilegais. Em resumo, a pesquisa foi conduzida para tornar análises eletroquímicas de medicamentos forenses mais práticas, portáteis e com baixo custo. Neste sentido, partiu-se de uma célula BIA impressa em 3D já desenvolvida anteriormente (volume: 10 - 80 mL) que utilizava eletrodos de referência, auxiliar e de trabalho comerciais e finalizou-se com o desenvolvimento e aplicação de uma célula impressa em 3D miniaturizada (volume: 0,5 – 3,0 mL) compatível com qualquer eletrodo de trabalho planar (incluindo materiais alternativos, como folha de grafite e impresso com caneta 3D) e que continha os eletrodos de PRE e CE impressos com caneta 3D integrados na tampa da célula. Assim, a ideia de miniaturizar as dimensões da célula eletroquímica (reduzindo a quantidade de reagentes e resíduos) e diminuir os custos (construção da célula e eletrodos) foi alcançada, uma vez que houve uma redução de vinte vezes no volume mínimo para análise e de 14 vezes nos custos (US\$ 7,0 vs US\$ 0,51). Além disso, a amostragem direta do sólido e detecção eletroquímica do medicamento aumentou ainda mais a praticidade e portabilidade do sistema para triagens em medicamentos, o que é interessante para analistas e peritos.

Referências

- (1) Organização Mundial da Saúde. *Sistema Mundial de Vigilância e Monitorização Da OMS Para Os Produtos Médicos de Qualidade Inferior e Falsificados*; Genebra, 2018.
- (2) Costa, C. R. A. Falsificação de medicamentos: um breve panorama e estudo de caso. **2016**, 39.
- (3) Ames, J.; Souza, D. Z. Falsificação de medicamentos no Brasil. *Revista de Saúde Pública* **2012**, 46 (1), 154–159. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102012005000005>.
- (4) Hurtado, R. L.; Lasmar, M. C. Medicamentos Falsificados e Contrabandeados No Brasil: Panorama Geral e Perspectivas de Combate Ao Seu Consumo. *Cadernos de Saúde Pública* **2014**, 30 (4), 891–895. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00107013>.
- (5) Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil); Pan American Health Organization. *Prevenção e combate à falsificação e fraude de medicamentos: uma responsabilidade compartilhada = Prevención y combate a la falsificación y el fraude de medicamentos: una responsabilidad compartida*; Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária--ANVISA, Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde--OPAS/OMS: Brasília, DF, 2005.
- (6) Sherma, J.; Rabel, F. Advances in the Thin Layer Chromatographic Analysis of Counterfeit Pharmaceutical Products: 2008–2019. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **2019**, 42 (11/12), 367–379. <https://doi.org/10.1080/10826076.2019.1610772>.
- (7) Vickers, S.; Bernier, M.; Zambrzycki, S.; Fernandez, F. M.; Newton, P. N.; Caillet, C. Field Detection Devices for Screening the Quality of Medicines: A Systematic Review. *BMJ Global Health* **2018**, 3 (4). <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2018-000725>.
- (8) Opuni, K. F.-M.; Nettey, H.; Larbi, M. A.; Amartey, S. N. A.; Nti, G.; Dzionu, A.; Owusu-Danso, P.; Owusu, N. A.; Nyarko, A. K. Usefulness of Combined Screening Methods for Rapid Detection of Falsified and/or Substandard Medicines in the Absence of a Confirmatory Method. *Malaria Journal* **2019**, 18 (1), N.PAG-N.PAG. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-3045-y>.
- (9) Organização Pan-Americana da Saúde. *OPAS/OMS Brasil - Nova pesquisa da OMS revela que um em cada 10 produtos médicos em países de baixa e média renda tem baixa qualidade ou é falsificado | OPAS/OMS*. Pan American Health Organization / World Health Organization. https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5555:nova-pesquisa-da-oms-revela-que-um-em-cada-10-produtos-medicos-em-paises-de-baixa-e-media-renda-tem-baixa-qualidade-ou-e-falsificado&Itemid=838 (accessed 2019-07-03).

- (10) Bolla, A. S.; Patel, A. R.; Priefer, R. The Silent Development of Counterfeit Medications in Developing Countries – A Systematic Review of Detection Technologies. *International Journal of Pharmaceutics* **2020**, 587, 119702. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119702>.
- (11) *OMS faz alerta sobre medicamentos falsos e de baixa qualidade*. ONU News. <https://news.un.org/pt/story/2017/11/1601782-oms-faz-alerta-sobre-medicamentos-falsos-e-de-baixa-qualidade> (accessed 2021-05-18).
- (12) *GPHF | O GPHF-Minilab TM - Proteção contra medicamentos falsificados*. <https://www.gphf.org/en/minilab/index.htm> (accessed 2021-05-26).
- (13) Araújo, J. de F. *A Falsificação de Medicamentos e a Atuação Da Vigilância Sanitária*, Universidade de Brasília, Brasília, 2001.
- (14) *Entenda como foi feito o teste dos remédios genéricos do Fantástico*. G1 Globo. <http://g1.globo.com/fantastico/noticia/2017/01/entenda-como-foi-feito-o-teste-dos-remedios-genericos-do-fantastico.html> (accessed 2019-02-11).
- (15) *Quase 200 lotes de remédios para hipertensão são recolhidos pela Anvisa*. Saúde é Vital. <https://saude.abril.com.br/medicina/quase-200-lotes-de-remedios-para-hipertensao-sao-recolhidos-pela-anvisa/> (accessed 2020-01-08).
- (16) Schmidtsdorff, S.; Schmidt, A. H. Simultaneous Detection of Nitrosamines and Other Sartan-Related Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients by Supercritical Fluid Chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2019**, 174, 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.04.049>.
- (17) G1 MS. *Anvisa suspende uso de princípio ativo Dextrometorfano no Brasil*. Mato Grosso do Sul. <http://g1.globo.com/mato-grosso-do-sul/noticia/2013/10/anvisa-suspende-uso-de-principio-ativo-dextrometorfano-no-brasil.html> (accessed 2021-05-19).
- (18) Chaves, B.; Zaidan, Z. *OMS alertou em janeiro para risco de morte com xarope que afetou 27*. Campo Grande News. <https://www.campograndenews.com.br/cidades/oms-alertou-em-janeiro-para-risco-de-morte-com-xarope-que-afetou-27> (accessed 2021-05-19).
- (19) Fox, K.; Schlimovich, A. *Mais de 170 chilenas engravidam após falha de pílula distribuída pelo governo*. CNN Brasil. <https://www.cnnbrasil.com.br/internacional/2021/04/06/mais-de-170-chilenas-engravidam-apos-falha-de-pilula-distribuida-pelo-governo> (accessed 2021-05-19).
- (20) Souza, M. *Falha em pílula deixa ao menos 170 mulheres grávidas no Chile, diz entidade*. UOL. <https://www.uol.com.br/universa/noticias/redacao/2021/03/16/falha-em-anticoncepcional-deixa-mais-de-170-mulheres-gravidas-no-chile.htm> (accessed 2021-05-19).
- (21) Estadão. *No Chile, pílulas anticoncepcionais com defeito dadas pelo governo causam gravidez indesejada*. Estadão.

<https://internacional.estadao.com.br/noticias/geral,no-chile-pilulas-anticoncepcionais-com-defeito-dadas-pelo-governo-causam-gravidez-indesejada,70003633192> (accessed 2021-05-19).

- (22) Londoño, E. *Defective Birth Control Blamed for Scores of Unplanned Pregnancies in Chile*. The New York Times. <https://www.nytimes.com/2021/03/02/world/americas/chile-women-birth-control.html> (accessed 2021-05-19).
- (23) *Pílula*. <https://www.bluesci.co.uk/posts/fake-birth-control-pills-hit-market-scientists-develop-quick-screening-method> (accessed 2021-04-10).
- (24) Organização Pan-Americana da Saúde. *Medicamentos falsificados: diretrizes para desenvolvimento de medidas de combate a medicamentos falsificados*; Brasília, 2005; p 65.
- (25) Cardozo, C. G. Uso do sistema portátil de análise por injeção em batelada (BIA) com detecção eletroquímica para rápidas discriminações entre medicamentos contendo citrato de sildenafila, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2016.
- (26) Shi, Y.-Q.; Yao, J.; Liu, F.; Hu, C.-Q.; Yuan, J.; Zhang, Q.-M.; Jin, S.-H. Establishment of an HPLC Identification System for Detection of Counterfeit Steroidal Drugs. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2008**, *46* (4), 663–669. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.11.034>.
- (27) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *O Que Devemos Saber Sobre Medicamentos*; 2010.
- (28) Seitzer, M.; Klapper, S.; Mazigo, H. D.; Holzgrabe, U.; Mueller, A. Quality and Composition of Albendazole, Mebendazole and Praziquantel Available in Burkina Faso, Côte d’Ivoire, Ghana and Tanzania. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **2021**, *15* (1), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009038>.
- (29) Gostin, L. O.; Buckley, G. J. *Countering the Problem of Falsified and Substandard Drugs*; National Academies Press: Washington, D.C., 2013.
- (30) Green, M. D.; Nettey, H.; Rojas, O. V.; Pamanivong, C.; Khounsaknalath, L.; Ortiz, M. G.; Newton, P. N.; Fernández, F. M.; Vongsack, L.; Manolin, O. Use of Refractometry and Colorimetry as Field Methods to Rapidly Assess Antimalarial Drug Quality. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2007**, *43* (1), 105–110. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.06.047>.
- (31) Martino, R.; Malet-Martino, M.; Gilard, V.; Balayssac, S. Counterfeit Drugs: Analytical Techniques for Their Identification. *Anal Bioanal Chem* **2010**, *398* (1), 77–92. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3748-y>.
- (32) Conceição, V. N.; Souza, L. M.; Merlo, B. B.; Filgueiras, P. R.; Poppi, R. J.; Romão, W. ESTUDO DO TESTE DE SCOTT VIA TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS: UM MÉTODO ALTERNATIVO PARA DIFERENCIAR CLORIDRATO DE COCAÍNA E SEUS ADULTERANTES. *Química Nova* **2014**. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140240>.

- (33) Rebiere, H.; Guinot, P.; Chauvey, D.; Brenier, C. Fighting Falsified Medicines: The Analytical Approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2017**, *142*, 286–306. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.010>.
- (34) Silva, J. A. da. Dissolução de Comprimidos: Estudo Comparativo de Apresentações Genéricas Contendo Diazepam, Instituto de Tecnologias em Famacos-farmanguinhos/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2013.
- (35) Oliveira, C. de L. Teste de Dissolução: Conceitos, Aplicações e Relevância No Desenvolvimento e Controle de Medicamentos., Instituto Adolfo Lutz, 2019.
- (36) Yu, H.; Le, H. M.; Kaale, E.; Long, Kenneth. D.; Layloff, T.; Lumetta, S. S.; Cunningham, B. T. Characterization of Drug Authenticity Using Thin-Layer Chromatography Imaging with a Mobile Phone. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2016**, *125*, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.03.018>.
- (37) Cai, L. Thin Layer Chromatography. In *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*; 2014; Vol. 8, p 6.3.1-6.3.18. <https://doi.org/10.1002/9780470089941.et0603s08>.
- (38) Kumar, S.; Jyotirmayee, K.; Sarangi, M. Thin Layer Chromatography: A Tool of Biotechnology for Isolation of Bioactive Compounds from Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **2013**, *1*, 126–132.
- (39) Collins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P. S. *Introdução a métodos cromatográficos*, 7th ed.; Editora da UNICAMP: Campinas, 1997.
- (40) *GPHF The Global Pharma Health Fund*. <https://www.gphf.org/en/> (accessed 2021-05-26).
- (41) Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brazil); Fundação Oswaldo Cruz. *Farmacopeia brasileira.*, 5th ed.; Brasília, 2010; Vol. 2.
- (42) Harris, D. C. *Explorando a Química Analítica*, 4th ed.; Rio de Janeiro, 2016.
- (43) Collins, C. H.; Manfredi, J. F.; Valente, A. L. P.; Murta, A. L. M.; McNair, H. M. O Que é Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). *Química Nova* **1983**, *6*, 46–49.
- (44) Degani, A. L. G.; Cass, Q. B.; Vieira, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. *Química Nova na Escola* **1998**, 21–25.
- (45) Aitekenov, S.; Gaipov, A.; Bukasov, R. Review: Detection and quantification of proteins in human urine. *Talanta* **2021**, *223*, 121718. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121718>.
- (46) Bonsu, D. O. M.; Afoakwah, C.; Aguilar-Caballos, M. de la P. Counterfeit Formulations: Analytical Perspective on Anorectics. *Forensic Toxicol* **2021**, *39* (1), 1–25. <https://doi.org/10.1007/s11419-020-00564-5>.

- (47) Höllein, L.; Kaale, E.; Mwalwisi, Y. H.; Schulze, M. H.; Holzgrabe, U. Routine Quality Control of Medicines in Developing Countries: Analytical Challenges, Regulatory Infrastructures and the Prevalence of Counterfeit Medicines in Tanzania. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2016**, *76*, 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.11.009>.
- (48) Aleixo, L. M. Voltametria: conceito e técnicas. *Chemkeys* 1–40.
- (49) Souza, D. de; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. *Química Nova* **2003**, *26* (1), 81–89. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100015>.
- (50) Kalinke, C. Avaliação da potencialidade eletroanalítica de biochar, obtido em diferentes temperaturas, em eletrodos modificados para determinação de espécies de interesse, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.
- (51) Souza, D. de; Codognoto, L.; Malagutti, A. R.; Toledo, R. A.; Pedrosa, V. A.; Oliveira, R. T. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. *Química Nova* **2004**, *27* (5), 790–797. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500019>.
- (52) Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brazil); Fundação Oswaldo Cruz. *Farmacopeia brasileira.*, 5th ed.; Brasília, 2010; Vol. 2.
- (53) Nunes, C. N.; Pauluk, L. E.; Felsner, M. L.; Anjos, V. E. dos; Quináia, S. P. Rapid Screening Method for Detecting Ethinyl Estradiol in Natural Water Employing Voltammetry. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* **2016**, *2016*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2016/3217080>.
- (54) Cardoso, R. M.; Kalinke, C.; Rocha, R. G.; dos Santos, P. L.; Rocha, D. P.; Oliveira, P. R.; Janegitz, B. C.; Bonacin, J. A.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A. Additive-Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensors: A Critical Review. *Analytica Chimica Acta* **2020**, *1118*, 73–91. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.03.028>.
- (55) Katseli, V.; Economou, A.; Kokkinos, C. A Novel All-3D-Printed Cell-on-a-Chip Device as a Useful Electroanalytical Tool: Application to the Simultaneous Voltammetric Determination of Caffeine and Paracetamol. *Talanta* **2020**, *208*, 120388. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120388>.
- (56) Katseli, V.; Thomaidis, N.; Economou, A.; Kokkinos, C. Miniature 3D-Printed Integrated Electrochemical Cell for Trace Voltammetric Hg(II) Determination. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2020**, *308*, 127715. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127715>.
- (57) Katseli, V.; Economou, A.; Kokkinos, C. Smartphone-Addressable 3D-Printed Electrochemical Ring for Nonenzymatic Self-Monitoring of Glucose in Human Sweat. *Anal. Chem.* **2021**, *93* (7), 3331–3336. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c05057>.
- (58) Katseli, V.; Economou, A.; Kokkinos, C. Single-Step Fabrication of an Integrated 3D-Printed Device for Electrochemical Sensing Applications. *Electrochemistry*

- (59) de Oliveira, F. M.; de Melo, E. I.; da Silva, R. A. B. 3D Pen: A Low-Cost and Portable Tool for Manufacture of 3D-Printed Sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2020**, *321*, 128528. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128528>.
- (60) Silva-Neto, H. A.; Santhiago, M.; Duarte, L. C.; Coltro, W. K. T. Fully 3D Printing of Carbon Black-Thermoplastic Hybrid Materials and Fast Activation for Development of Highly Stable Electrochemical Sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2021**, *349*, 130721. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130721>.
- (61) Livas, D.; Trachioti, M.; Banou, S.; Angelopoulou, M.; Economou, A.; Prodromidis, M.; Petrou, P.; Kakabakos, S.; Kokkinos, C. 3D Printed Microcell Featuring a Disposable Nanocomposite Sb/Sn Immunosensor for Quantum Dot-Based Electrochemical Determination of Adulteration of Ewe/Goat's Cheese with Cow's Milk. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2021**, *334*, 129614. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129614>.
- (62) Ferreira, P. A.; de Oliveira, F. M.; de Melo, E. I.; de Carvalho, A. E.; Lucca, B. G.; Ferreira, V. S.; da Silva, R. A. B. Multi Sensor Compatible 3D-Printed Electrochemical Cell for Voltammetric Drug Screening. *Analytica Chimica Acta* **2021**, *1169*, 338568. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338568>.
- (63) Hossain, N.; Chowdhury, M. A.; Shuvho, Md. B. A.; Kashem, M. A.; Kchaou, M. 3D-Printed Objects for Multipurpose Applications. *J. of Materi Eng and Perform* **2021**. <https://doi.org/10.1007/s11665-021-05664-w>.
- (64) Garzon-Hernandez, S.; Arias, A.; Garcia-Gonzalez, D. A Continuum Constitutive Model for FDM 3D Printed Thermoplastics. *Composites Part B: Engineering* **2020**, *201*, 108373. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2020.108373>.
- (65) Silva, A. L.; Salvador, G. M. da S.; Castro, S. V. F.; Carvalho, N. M. F.; Munoz, R. A. A. A 3D Printer Guide for the Development and Application of Electrochemical Cells and Devices. *Front. Chem.* **2021**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.684256>.
- (66) Wirth, D. M.; Sheaff, M. J.; Waldman, J. V.; Symcox, M. P.; Whitehead, H. D.; Sharp, J. D.; Doerfler, J. R.; Lamar, A. A.; LeBlanc, G. Electrolysis Activation of Fused-Filament-Fabrication 3D-Printed Electrodes for Electrochemical and Spectroelectrochemical Analysis. *Anal. Chem.* **2019**, *91* (9), 5553–5557. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01331>.
- (67) Wang, X.; Jiang, M.; Zhou, Z.; Gou, J.; Hui, D. 3D Printing of Polymer Matrix Composites: A Review and Prospective. *Composites Part B: Engineering* **2017**, *110*, 442–458. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2016.11.034>.
- (68) Kumar, K. P. A.; Pumera, M. 3D-Printing to Mitigate COVID-19 Pandemic. *Advanced Functional Materials* **2021**, *31* (22), 2100450. <https://doi.org/10.1002/adfm.202100450>.

- (69) Richter, E. M.; Rocha, D. P.; Cardoso, R. M.; Keefe, E. M.; Foster, C. W.; Munoz, R. A. A.; Banks, C. E. Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform. *Anal. Chem.* **2019**, *91* (20), 12844–12851. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573>.
- (70) Parandoush, P.; Lin, D. A Review on Additive Manufacturing of Polymer-Fiber Composites. *Composite Structures* **2017**, *182*, 36–53. <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2017.08.088>.
- (71) Agrawaal, H.; Thompson, J. E. Additive Manufacturing (3D Printing) for Analytical Chemistry. *Talanta Open* **2021**, *3*, 100036. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100036>.
- (72) Kalsoom, U.; Nesterenko, P. N.; Paull, B. Current and Future Impact of 3D Printing on the Separation Sciences. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2018**, *105*, 492–502. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.06.006>.
- (73) Ambrosi, A.; Pumera, M. 3D-Printing Technologies for Electrochemical Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45* (10), 2740–2755. <https://doi.org/10.1039/C5CS00714C>.
- (74) Awad, R. H.; Habash, S. A.; Hansen, C. J. 3D Printing Methods. In *3D Printing Applications in Cardiovascular Medicine*; Elsevier, 2018; pp 11–32. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803917-5.00002-X>.
- (75) Gokhare, V. G.; Raut, D. D. N.; Shinde, D. D. K. A Review Paper on 3D-Printing Aspects and Various Processes Used in the 3D-Printing. *International Journal of Engineering Research* **2017**, *6* (06), 6.
- (76) Remaggi, G.; Zaccarelli, A.; Elviri, L. 3D Printing Technologies in Biosensors Production: Recent Developments. *Chemosensors* **2022**, *10* (2), 65. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10020065>.
- (77) Hotza, D. Prototipagem rápida de pilhas a combustível de óxido sólido. *Matéria (Rio J.)* **2009**, *14*, 1101–1113. <https://doi.org/10.1590/S1517-70762009000400003>.
- (78) Hartings, M. R.; Ahmed, Z. Chemistry from 3D Printed Objects. *Nat Rev Chem* **2019**, *3* (5), 305–314. <https://doi.org/10.1038/s41570-019-0097-z>.
- (79) Su, A.; Al'Aref, S. J. History of 3D Printing. In *3D Printing Applications in Cardiovascular Medicine*; Elsevier, 2018; pp 1–10. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803917-5.00001-8>.
- (80) Cardoso, R. M.; Mendonça, D. M. H.; Silva, W. P.; Silva, M. N. T.; Nossol, E.; da Silva, R. A. B.; Richter, E. M.; Muñoz, R. A. A. 3D Printing for Electroanalysis: From Multiuse Electrochemical Cells to Sensors. *Analytica Chimica Acta* **2018**, *1033*, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.021>.
- (81) 3D Systems. *Nossa história*. 3D Systems. <https://br.3dsystems.com/our-story> (accessed 2021-06-08).

- (82) 3D Systems. *Quais são os benefícios da Estereolitografia?*. 3D Systems. <https://br.3dsystems.com/resources/information-guides/stereolithography/sla> (accessed 2021-06-12).
- (83) Stratasys. *3D Printing with Thermoplastics*. <https://www.stratasysdirect.com/materials/thermoplastics/3d-printing-thermoplastics-key-considerations> (accessed 2021-06-18).
- (84) Brown, T. L.; Lemay, H. E.; Bursten, B. E.; Murphy, C. J.; Woodward, P. M.; Stoltzfus, M. W. *Química: A Ciência Central*, 13th ed.; Pearson Prentice Hall, 2016.
- (85) Liu, W.; Zhou, J.; Ma, Y.; Wang, J.; Xu, J. Fabrication of PLA Filaments and Its Printable Performance. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* **2017**, *275*, 012033. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/275/1/012033>.
- (86) Kumar, R.; Singh, R.; Farina, I. On the 3D Printing of Recycled ABS, PLA and HIPS Thermoplastics for Structural Applications. *PSU Research Review* **2018**, *2*, 115–137. <https://doi.org/10.1108/PRR-07-2018-0018>.
- (87) Baran, E. H.; Erbil, H. Y. Surface Modification of 3D Printed PLA Objects by Fused Deposition Modeling: A Review. *Colloids and Interfaces* **2019**, *3* (2), 43. <https://doi.org/10.3390/colloids3020043>.
- (88) Liu, G.; Zhang, X.; Chen, X.; He, Y.; Cheng, L.; Huo, M.; Yin, J.; Hao, F.; Chen, S.; Wang, P.; Yi, S.; Wan, L.; Mao, Z.; Chen, Z.; Wang, X.; Cao, Z.; Lu, J. Additive Manufacturing of Structural Materials. *Materials Science and Engineering: R: Reports* **2021**, 1–67. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2020.100596>.
- (89) Tsai, K. L.; Al'Aref, S. J.; van Rosendael, A. R.; Bax, J. J. Chapter 5 - Complex Congenital Heart Disease. In *3D Printing Applications in Cardiovascular Medicine*; Al'Aref, S. J., Mosadegh, B., Dunham, S., Min, J. K., Eds.; Academic Press: Boston, 2018; pp 79–101. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803917-5.00005-5>.
- (90) Cardoso, R.; Castro, S.; Stefano, J.; Muñoz, R. Drawing Electrochemical Sensors Using a 3D Printing Pen. *J. Braz. Chem. Soc.* **2020**. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200129>.
- (91) Cardoso, R. M.; Rocha, D. P.; Rocha, R. G.; Stefano, J. S.; Silva, R. A. B.; Richter, E. M.; Muñoz, R. A. A. 3D-Printing Pen versus Desktop 3D-Printers: Fabrication of Carbon Black/Poly(lactic Acid) Electrodes for Single-Drop Detection of 2,4,6-Trinitrotoluene. *Analytica Chimica Acta* **2020**, *1132*, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.034>.
- (92) João, A. F.; Castro, S. V. F.; Cardoso, R. M.; Gamela, R. R.; Rocha, D. P.; Richter, E. M.; Muñoz, R. A. A. 3D Printing Pen Using Conductive Filaments to Fabricate Affordable Electrochemical Sensors for Trace Metal Monitoring. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2020**, *876*, 114701. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114701>.

- (93) Mercado livre. *Arquivo .stl Torre Eiffel para impressora 3D*. https://produto.mercadolivre.com.br/MLB-1635611083-arquivo-stl-torre-eiffel-p-impressora-3d-_JM (accessed 2021-08-17).
- (94) Tecmundo. *3Doodler: a caneta 3D de apenas US\$ 75*. <https://www.tecmundo.com.br/3d/36758-3doodler-a-caneta-3d-de- apenas-us-75.htm> (accessed 2021-08-17).
- (95) Sousa, L. R.; Duarte, L. C.; Coltro, W. K. T. Instrument-Free Fabrication of Microfluidic Paper-Based Analytical Devices through 3D Pen Drawing. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2020**, *312*, 128018. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128018>.
- (96) O’Neil, G. D.; Ahmed, S.; Halloran, K.; Janusz, J. N.; Rodriguez, A.; Terrero Rodríguez, I. M. Single-Step Fabrication of Electrochemical Flow Cells Utilizing Multi-Material 3D Printing. *Electrochemistry Communications* **2019**, *99*, 56–60. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.12.006>.
- (97) Foster, C. W.; Elbardisy, H. M.; Down, M. P.; Keefe, E. M.; Smith, G. C.; Banks, C. E. Additively Manufactured Graphitic Electrochemical Sensing Platforms. *Chemical Engineering Journal* **2020**, *381*, 122343. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122343>.
- (98) dos Santos, P. L.; Katic, V.; Loureiro, H. C.; dos Santos, M. F.; dos Santos, D. P.; Formiga, A. L. B.; Bonacin, J. A. Enhanced Performance of 3D Printed Graphene Electrodes after Electrochemical Pre-Treatment: Role of Exposed Graphene Sheets. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2019**, *281*, 837–848. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.11.013>.
- (99) Rocha, D. P.; Ataide, V. N.; de Siervo, A.; Gonçalves, J. M.; Muñoz, R. A. A.; Paixão, T. R. L. C.; Angnes, L. Reagentless and Sub-Minute Laser-Scribing Treatment to Produce Enhanced Disposable Electrochemical Sensors via Additive Manufacture. *Chemical Engineering Journal* **2021**, *425*, 130594. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130594>.
- (100) Cardoso, R. M.; Castro, S. V. F.; Silva, M. N. T.; Lima, A. P.; Santana, M. H. P.; Nossol, E.; Silva, R. A. B.; Richter, E. M.; Paixão, T. R. L. C.; Muñoz, R. A. A. 3D-Printed Flexible Device Combining Sampling and Detection of Explosives. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2019**, *292*, 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.04.126>.
- (101) Castro, S. V. F.; Lima, A. P.; Rocha, R. G.; Cardoso, R. M.; Montes, R. H. O.; Santana, M. H. P.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A. Simultaneous Determination of Lead and Antimony in Gunshot Residue Using a 3D-Printed Platform Working as Sampler and Sensor. *Analytica Chimica Acta* **2020**, *1130*, 126–136. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.033>.
- (102) Gusmão, R.; Browne, M. P.; Sofer, Z.; Pumera, M. The Capacitance and Electron Transfer of 3D-Printed Graphene Electrodes Are Dramatically Influenced by the Type of Solvent Used for Pre-Treatment. *Electrochemistry Communications* **2019**, *102*, 83–88. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.04.004>.

- (103) Browne, M. P.; Novotný, F.; Sofer, Z.; Pumera, M. 3D Printed Graphene Electrodes' Electrochemical Activation. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2018**, *10* (46), 40294–40301. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b14701>.
- (104) Foster, C. W.; Down, M. P.; Zhang, Y.; Ji, X.; Rowley-Neale, S. J.; Smith, G. C.; Kelly, P. J.; Banks, C. E. 3D Printed Graphene Based Energy Storage Devices. *Sci Rep* **2017**, *7* (1), 42233. <https://doi.org/10.1038/srep42233>.
- (105) Vaněčková, E.; Bouša, M.; Nováková Lachmanová, Š.; Rathouský, J.; Gál, M.; Sebechlebská, T.; Kolivoška, V. 3D Printed Polylactic Acid/Carbon Black Electrodes with Nearly Ideal Electrochemical Behaviour. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2020**, *857*, 113745. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113745>.
- (106) Aytac; Mckinlay; Krane. The Likely Worldwide Increase in Erectile Dysfunction between 1995 and 2025 and Some Possible Policy Consequences. *BJU International* **1999**, *84* (1), 50–56. <https://doi.org/10.1046/j.1464-410x.1999.00142.x>.
- (107) Francis, S. H.; Bessay, E. P.; Kotera, J.; Grimes, K. A.; Liu, L.; Thompson, W. J.; Corbin, J. D. Phosphorylation of Isolated Human Phosphodiesterase-5 Regulatory Domain Induces an Apparent Conformational Change and Increases CGMP Binding Affinity. *Journal of Biological Chemistry* **2002**, *277* (49), 47581–47587. <https://doi.org/10.1074/jbc.M206088200>.
- (108) Oliveira, F. M.; Ferreira, P. A.; Neves, C. G.; Rosa, T. M.; Santos, W. T. P.; Melo, E. I.; Silva, R. A. B. Fast Screening and Determination of Tadalafil in Pharmaceuticals by Batch Injection Analysis (BIA) with Amperometric Detection. *Electroanalysis* **2020**, *32* (10), 2253–2259. <https://doi.org/10.1002/elan.202060106>.
- (109) Is Your Little Blue Pill a Fake? *The Checkup*, 2019.
- (110) *Thousands of fake Viagra, Cialis pills confiscated during Shelby County drug bust.* <https://www.wreg.com/news/thousands-of-fake-viagra-cialis-pills-confiscated-during-memphis-drug-bust/> (accessed 2021-12-15).
- (111) Park, M.; Ahn, S. Quantitative Analysis of Sildenafil and Tadalafil in Various Fake Drugs Recently Distributed in Korea. *Journal of Forensic Sciences* **2012**, *57* (6), 1637–1640. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2012.02164.x>.
- (112) Yunoos, M.; Sankar, D. G.; Kumar, B. P.; Hameed, S. UV Spectrophotometric Method for the Estimation of Tadalafil in Bulk and Tablet Dosage Form. *E-Journal of Chemistry* **2010**, *7* (3), 833–836. <https://doi.org/10.1155/2010/630576>.
- (113) Rodríguez Flores, J.; Berzas Nevado, J. J.; Castañeda Peñalvo, G.; Mora Diez, N. Development of a Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography Method for the Determination of Three Drugs Employed in the Erectile Dysfunction Therapy. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2004**, *811* (2), 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.07.016>.

- (114) Ali, I.; Aboul-Enein, H. Y. Validated Method for Tadalafil Analysis in Pharmaceutical Preparations by Capillary Electrophoresis. *Chromatographia* **2004**, *60* (3), 187–191. <https://doi.org/10.1365/s10337-004-0366-x>.
- (115) Dogan, A.; E. Basci, N. Green Bioanalytical and Pharmaceutical Analysis of Voriconazole and Tadalafil by HPLC. *Current Pharmaceutical Analysis* **2017**, *13* (6), 495–504. <https://doi.org/10.2174/1573412913666170210160251>.
- (116) Papoutsis, I.; Nikolaou, P.; Athanaselis, S.; Alevizopoulos, G.; Pistos, C.; Paraskevopoulou, C.; Spiliopoulou, C. Development and Validation of a Gas Chromatography-Mass Spectrometric Method for the Determination of Sildenafil and Desmethyl-Sildenafil in Whole Blood. *Journal of Separation Science* **2011**, *34* (21), 3037–3042. <https://doi.org/10.1002/jssc.201100496>.
- (117) dos Santos, M. K.; de Cassia Mariotti, K.; Kahmann, A.; Anzanello, M. J.; Ferrão, M. F.; de Araújo Gomes, A.; Limberger, R. P.; Ortiz, R. S. Comparison between Counterfeit and Authentic Medicines: A Novel Approach Using Differential Scanning Calorimetry and Hierarchical Cluster Analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2019**, *166*, 304–309. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.01.029>.
- (118) Fraser, S. J.; Oughton, J.; Batten, W. A.; Clark, A. S. S.; Schmierer, D. M.; Gordon, K. C.; Strachan, C. J. Simultaneous Qualitative and Quantitative Analysis of Counterfeit and Unregistered Medicines Using Raman Spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* **2013**, *44* (8), 1172–1180. <https://doi.org/10.1002/jrs.4344>.
- (119) Sartori, E. R.; Clausen, D. N.; Pires, I. M. R.; Salamanca-Neto, C. A. R. Sensitive Square-Wave Voltammetric Determination of Tadalafil (Cialis®) in Pharmaceutical Samples Using a Cathodically Pretreated Boron-Doped Diamond Electrode. *Diamond and Related Materials* **2017**, *77*, 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2017.07.001>.
- (120) Demir, E.; Inam, R.; Ozkan, S. A.; Uslu, B. Electrochemical Behavior of Tadalafil on TiO₂ Nanoparticles–MWCNT Composite Paste Electrode and Its Determination in Pharmaceutical Dosage Forms and Human Serum Samples Using Adsorptive Stripping Square Wave Voltammetry. *J Solid State Electrochem* **2014**, *18* (10), 2709–2720. <https://doi.org/10.1007/s10008-014-2529-5>.
- (121) Yang, L.; Zhao, H.; Li, C.-P.; Fan, S.; Li, B. Dual β-Cyclodextrin Functionalized Au@SiC Nanohybrids for the Electrochemical Determination of Tadalafil in the Presence of Acetonitrile. *Biosensors and Bioelectronics* **2015**, *64*, 126–130. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.08.068>.
- (122) Zhao, H.; Yang, L.; Li, Y.; Ran, X.; Ye, H.; Zhao, G.; Zhang, Y.; Liu, F.; Li, C.-P. A Comparison Study of Macrocyclic Hosts Functionalized Reduced Graphene Oxide for Electrochemical Recognition of Tadalafil. *Biosensors and Bioelectronics* **2017**, *89*, 361–369. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.07.016>.

- (123) Hanssen, B. L.; Siraj, S.; Wong, D. K. Y. Recent Strategies to Minimise Fouling in Electrochemical Detection Systems. *Reviews in Analytical Chemistry* **2016**, *35* (1), 1–28. <https://doi.org/10.1515/revac-2015-0008>.
- (124) Wang, Joseph.; Taha, Ziad. Batch Injection Analysis. *Anal. Chem.* **1991**, *63* (10), 1053–1056. <https://doi.org/10.1021/ac00010a025>.
- (125) Rocha, D. P.; Cardoso, R. M.; Tormin, T. F.; de Araujo, W. R.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Angnes, L. Batch-Injection Analysis Better than Ever: New Materials for Improved Electrochemical Detection and On-Site Applications. *Electroanalysis* **2018**, *30* (7), 1386–1399. <https://doi.org/10.1002/elan.201800042>.
- (126) Quintino, M. S. M.; Angnes, L. Batch Injection Analysis: An Almost Unexplored Powerful Tool. *Electroanalysis* **2004**, *16* (7), 513–523. <https://doi.org/10.1002/elan.200302878>.
- (127) Suffredini, H. B.; Pedrosa, V. A.; Codognoto, L.; Machado, S. A. S.; Rocha-Filho, R. C.; Avaca, L. A. Enhanced Electrochemical Response of Boron-Doped Diamond Electrodes Brought on by a Cathodic Surface Pre-Treatment. *Electrochimica Acta* **2004**, *49* (22–23), 4021–4026. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2004.01.082>.
- (128) *Tadalafil*. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00820> (accessed 2021-12-16).
- (129) Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: New York, 2001.
- (130) Cardozo, C. G.; Cardoso, R. M. C.; Selva, T. M. G.; Carvalho, A. E. de; Santos, W. T. P. dos; Paixão, T. R. L. C.; Silva, R. A. B. da. Batch Injection Analysis-Multiple Pulse Amperometric Fingerprint: A Simple Approach for Fast On-site Screening of Drugs. *Electroanalysis* **2017**, *29* (12), 2847–2854. <https://doi.org/10.1002/elan.201700520>.
- (131) Tormin, T. F.; Cunha, R. R.; da Silva, R. A. B.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M. Combination of Screen-Printed Electrodes and Batch Injection Analysis: A Simple, Robust, High-Throughput, and Portable Electrochemical System. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *202*, 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.04.096>.
- (132) Muratt, D. T.; Müller, L. S.; Molin, T. D.; Viana, C.; Carvalho, L. M. de. Pulsed Amperometric Detection of Pharmacologic Adulterants in Dietary Supplements Using a Gold Electrode Coupled to HPLC Separation. *Anal. Methods* **2018**, *10* (19), 2226–2233. <https://doi.org/10.1039/C8AY00178B>.
- (133) Salah, A.; Hassan, M.; Liu, J.; Li, M.; Bo, X.; Ndamaniha, J. C.; Guo, L. Pt Nanoparticles Supported on Nitrogen-Doped Porous Graphene for Sensitive Detection of Tadalafil. *Journal of Colloid and Interface Science* **2018**, *512*, 379–388. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.10.022>.
- (134) Xin, C.; Gao, S.; Din, Y.; Wu, Y.; Wang, F. Direct Electrodeposition to Fabricate 3D Graphene Network Modified Glassy Carbon Electrode for Sensitive

Determination of Tadalafil. *NANO* **2019**, *14* (01), 1950009. <https://doi.org/10.1142/S1793292019500097>.

- (135) Lourencao, B. C.; Brocenschi, R. F.; Medeiros, R. A.; Fatibello-Filho, O.; Rocha-Filho, R. C. Analytical Applications of Electrochemically Pretreated Boron-Doped Diamond Electrodes. *ChemElectroChem* **2020**, *7* (6), 1291–1311. <https://doi.org/10.1002/celec.202000050>.
- (136) Rocha, D. P.; Squissato, A. L.; da Silva, S. M.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A. Improved Electrochemical Detection of Metals in Biological Samples Using 3D-Printed Electrode: Chemical/Electrochemical Treatment Exposes Carbon-Black Conductive Sites. *Electrochimica Acta* **2020**, *335*, 135688. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.135688>.
- (137) Santos, M. C. G.; Tarley, C. R. T.; Dall'Antonia, L. H.; Sartori, E. R. Evaluation of Boron-Doped Diamond Electrode for Simultaneous Voltammetric Determination of Hydrochlorothiazide and Losartan in Pharmaceutical Formulations. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *188*, 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.07.025>.
- (138) Backes, R. S.; Guedes, T. de J.; dos Santos, W. T. P.; da Silva, R. A. B. Determinação rápida e simples de citrato de sildenafila (Viagra® e genéricos) empregando eletrodo impresso de carbono em sistemas FIA e BIA com detecção amperométrica. *Química Nova* **2017**, No. 40, 752–759. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170047>.
- (139) Li, C. Voltammetric Determination of Ethinylestradiol at a Carbon Paste Electrode in the Presence of Cetyl Pyridine Bromine. *Bioelectrochemistry* **2007**, *70* (2), 263–268. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2006.10.001>.
- (140) Granger, M. C.; Witek, M.; Xu, J.; Wang, J.; Hupert, M.; Hanks, A.; Koppang, M. D.; Butler, J. E.; Lucazeau, G.; Mermoux, M.; Strojek, J. W.; Swain, G. M. Standard Electrochemical Behavior of High-Quality, Boron-Doped Polycrystalline Diamond Thin-Film Electrodes. *Anal. Chem.* **2000**, *72* (16), 3793–3804. <https://doi.org/10.1021/ac0000675>.
- (141) Silva, L. A. J.; Stefano, J. S.; Cardoso, R. M.; Prado, N. S.; Soares, P. H. T.; Nossol, E.; Munoz, R. A. A.; Angnes, L.; Richter, E. M. Evaluation of Graphite Sheets for Production of High-Quality Disposable Sensors. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2019**, *833*, 560–567. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.12.029>.
- (142) Sophocleous, M.; Atkinson, J. K. A Review of Screen-Printed Silver/Silver Chloride (Ag/AgCl) Reference Electrodes Potentially Suitable for Environmental Potentiometric Sensors. *Sensors and Actuators A: Physical* **2017**, *267*, 106–120. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2017.10.013>.
- (143) Lourenção, B. C.; Medeiros, R. A.; Rocha-Filho, R. C.; Mazo, L. H.; Fatibello-Filho, O. Simultaneous Voltammetric Determination of Paracetamol and Caffeine in Pharmaceutical Formulations Using a Boron-Doped Diamond Electrode. *Talanta* **2009**, *78* (3), 748–752. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.12.040>.

- (144) Castro, S. V. F.; Cardoso, R. M.; Santana, M. H. P.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A. Graphite Sheet as a Novel Material for the Collection and Electrochemical Sensing of Explosive Residues. *Talanta* **2019**, *203*, 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.048>.
- (145) de Araujo, W. R.; Cardoso, T. M. G.; da Rocha, R. G.; Santana, M. H. P.; Muñoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Paixão, T. R. L. C.; Coltro, W. K. T. Portable Analytical Platforms for Forensic Chemistry: A Review. *Analytica Chimica Acta* **2018**, *1034*, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.014>.
- (146) Özkan, S. A.; Uslu, B.; Zuman, P. Electrochemical Oxidation of Sildenafil Citrate (Viagra) on Carbon Electrodes. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *501* (2), 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.09.033>.
- (147) Zambianco, N. A.; da Silva, V. A. O. P.; Orzari, L. O.; Corat, E. J.; Zanin, H. G.; Silva, T. A.; Buller, G. A.; Keefe, E. M.; Banks, C. E.; Janegitz, B. C. Determination of Tadalafil in Pharmaceutical Samples by Vertically Oriented Multi-Walled Carbon Nanotube Electrochemical Sensing Device. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2020**, *877*, 114501. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114501>.
- (148) Delolo, F. G.; Rodrigues, C.; Silva, M. M. da; Dinelli, L. R.; Delling, F. N.; Zukerman-Schpector, J.; Batista, A. A. A New Electrochemical Sensor Containing a Film of Chitosan-Supported Ruthenium: Detection and Quantification of Sildenafil Citrate and Acetaminophen. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2014**, *25* (3). <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140031>.
- (149) Smajdor, J.; Piech, R.; Pięk, M.; Paczosa-Bator, B. Sensitive Voltammetric Determination of Ethinyl Estradiol on Carbon Black Modified Electrode. *Journal of The Electrochemical Society* **2017**, *164* (13), H885–H889. <https://doi.org/10.1149/2.0851713jes>.
- (150) *Anvisa alerta para a falsificação de medicamentos*. Governo do Brasil. <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2020/06/anvisa-alerta-para-a-falsificacao-de-medicamentos> (accessed 2022-04-13).
- (151) *Falsificação de remédios tem alta no Brasil em 2020, diz Anvisa*. Exame. <https://exame.com/brasil/falsificacao-de-remedios-tem-alta-no-brasil-em-2020-diz-anvisa/> (accessed 2022-04-13).
- (152) *Anvisa alerta para aumento na venda de remédios falsos*. CNN Brasil. <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/anvisa-alerta-para-o-aumento-na-venda-de-remedios-falsos/> (accessed 2022-04-13).
- (153) *Anvisa determina apreensão de imunoglobulina falsificada*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-determina-apreensao-de-imunoglobulina-falsificada> (accessed 2022-04-14).
- (154) *Anvisa determina a apreensão de autotestes para Covid-19 falsificados*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. <https://www.gov.br/anvisa/pt->

br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-determina-a-apreensao-de-autotestes-para-covid19-falsificados (accessed 2022-04-14).

- (155) Bin Hamzah, H. H.; Keattch, O.; Covill, D.; Patel, B. A. The Effects of Printing Orientation on the Electrochemical Behaviour of 3D Printed Acrylonitrile Butadiene Styrene (ABS)/Carbon Black Electrodes. *Sci Rep* **2018**, 8 (1), 9135. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27188-5>.
- (156) Whittingham, M. J.; Crapnell, R. D.; Rothwell, E. J.; Hurst, N. J.; Banks, C. E. Additive Manufacturing for Electrochemical Labs: An Overview and Tutorial Note on the Production of Cells, Electrodes and Accessories. *Talanta Open* **2021**, 4, 100051. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100051>.
- (157) Baranowska, I.; Koper, M.; Markowski, P. Electrochemical Determination of Carvedilol, Sildenafil and Paracetamol Using Glassy Carbon Electrode+. 15.
- (158) Silva, P. S. da. Desenvolvimento de Eletrodos Quimicamente Modificados Com Silsesquioxano Para Detecção Seletiva de Isômeros de Compostos Fenólicos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.
- (159) Hart, J. P. *Electroanalysis of Biologically Important Compounds*; E. Horwood, 1990.
- (160) Plambeck, J. A. *Electroanalytical Chemistry: Basic Principles and Applications*; Wiley: Canadá, 1982.
- (161) Wang, J. *Electroanalytical Techniques In Clinical Chemistry And Laboratory Medicine*; VCH: New Mexico State University, 1988.
- (162) Riley, T.; Watson, A. *Polarography and Other Voltammetric Methods*, 1st edition.; James, A. M., Ed.; Wiley: Chichester, 1987.
- (163) Pacheco, W. F.; Semaan, F. S.; Almeida, V. G. K.; Ritta, A. G. S. L.; Aucélio, R. Q. Voltammetry: A Brief Review About Concepts. *Revista Virtual de Química* **2013**, 5 (4), 516–537. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130040>.
- (164) *Analytical Voltammetry*; Smyth, M. R., Vos, J. G., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 1992; Vol. 27.
- (165) Dantas, A. N. de S. Estudos eletroanalíticos e mecanísticos de cetoconazol utilizando eletrodo sólido de amálgama de prata(p-AgSAE), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.
- (166) Liberato, P.; Silva, A.; Okumura, L.; Diniz, J.; Oliveira, A. INFLUÊNCIA DA FORÇA IÔNICA NA ESTIMATIVA DE pKa POR MÉTODO VOLTAMÉTRICO. *Quím. Nova* **2020**, 43. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170636>.
- (167) Backes dos Santos, R. Determinação Rápida de Citrato de Sildenafil Empregando Eletrodo Impresso Acolado a Sistema BIA e FIA, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2016.

- (168) Sasal, A.; Tyszczyk-Rotko, K. Screen-Printed Sensor for Determination of Sildenafil Citrate in Pharmaceutical Preparations and Biological Samples. *Microchemical Journal* **2019**, *149*, 104065. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104065>.
- (169) Tyszczyk, K.; Korolczyk, M. Voltammetric Method for the Determination of Sildenafil Citrate (Viagra) in Pure Form and in Pharmaceutical Formulations. *Bioelectrochemistry* **2010**, *78* (2), 113–117. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2009.08.005>.
- (170) Stefan-van Staden, R.-I.; van Staden, J. F.; Aboul-Enein, H. Y. Diamond Paste-Based Electrodes for the Determination of Sildenafil Citrate (Viagra). *Journal of Solid State Electrochemistry* **2010**, *14* (6), 997–1000. <https://doi.org/10.1007/s10008-009-0901-7>.
- (171) Batista, É. F.; Sartori, E. R.; Medeiros, R. A.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O. Differential Pulse Voltammetric Determination of Sildenafil Citrate (Viagra®) in Pharmaceutical Formulations Using a Boron-Doped Diamond Electrode. *Analytical Letters* **2010**, *43* (6), 1046–1054. <https://doi.org/10.1080/00032710903491153>.