



(21) BR 102024000830-8 A2

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(22) Data do Depósito: 15/01/2024

(43) Data da Publicação Nacional:
23/09/2025

(54) Título: SENSOR ELETROQUÍMICO E SEUS USOS

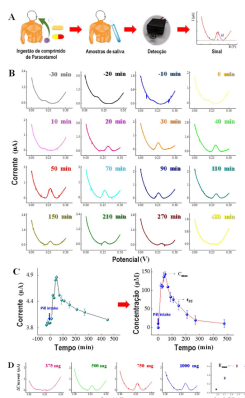
(51) Int. Cl.: G01N 27/30.

(52) CPC: G01N 27/308.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP.

(72) Inventor(es): PAULO AUGUSTO RAYMUNDO PEREIRA; NATHALIA OEZAU GOMES.

(57) **Resumo:** SENSOR ELETROQUÍMICO E SEUS USOS. A presente patente refere-se a sensores eletroquímicos descartáveis para o monitoramento e avaliação dos perfis de concentração de fármacos em amostras de saliva humana. O sensor eletroquímico desenvolvido apresenta simplicidade, baixo custo, portabilidade, estabilidade, robustez e potencial para serem executadas análises descentralizadas, podendo ser utilizado para fazer a detecção e rastreamento de paracetamol, um analgésico amplamente utilizado, diretamente em amostras de saliva humana não tratada. Os resultados demonstraram o potencial do uso de dispositivos eletroquímicos como uma ferramenta analítica não invasiva para auxiliar a medicina personalizada no tratamento medicamentoso, de forma a detectar a substância ativa, estabelecendo perfis de concentração nos fluidos biológicos e assim corrigir a insuficiência na absorção do medicamento para atender às necessidades individuais, evitando assim overdoses, efeitos colaterais e intoxicações.



SENSOR ELETROQUÍMICO E SEUS USOS

CAMPO DE INVENÇÃO

[001] A presente patente se insere no campo da Química Analítica, mais precisamente na área da Eletroanalítica, e refere-se a sensores eletroquímicos descartáveis para o monitoramento e avaliação dos perfis de concentração de fármacos em amostras de saliva humana. O sensor eletroquímico desenvolvido apresenta simplicidade, baixo custo, portabilidade, estabilidade, robustez e potencial para serem executadas análises descentralizadas, podendo ser utilizado para fazer a detecção e rastreamento de paracetamol, um analgésico amplamente utilizado, diretamente em amostras de saliva humana não tratada.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[002] Nos últimos anos, o consumo de fármacos em todo mundo vem crescendo com uma projeção de gastos globais em torno de 1,8 trilhões de dólares até 2026 (ZHAO *et al.*, 2012), isto é reflexo do envelhecimento da população, do surgimento de novas doenças e da propagação de pandemias como a COVID-19, por exemplo (LUNENFELD & STRATTON, 2013; TEYMOURIAN *et al.*, 2020). Atualmente os tratamentos medicamentosos existentes, baseiam-se em uma medicina considerada "tradicional" na qual os pacientes recebem uma dose padronizada equivalente de um medicamento, independentemente de seu estado de saúde, e condições clínicas, nutrição e metabolismo (DINCER *et al.*, 2017; ATES *et al.*, 2021; ATES *et al.*, 2020; MOON *et al.*, 2021), nos quais as prescrições médicas de fármacos seguem as recomendações dos fabricantes (RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, 2022; LIN *et al.*, 2020). Os paradigmas da medicina

tradicional não consideram que existem flutuações entre os indivíduos em termos de absorção ou resposta ao medicamento, enquanto a dosagem imprecisa dos fármacos pode ter efeitos prejudiciais à saúde e causar efeitos colaterais indesejados no paciente (DINCER *et al.*, 2017; ATES *et al.*, 2021; LIN *et al.*, 2020).

[003] Neste cenário, para superar os obstáculos destes tratamentos, uma nova premissa tem sido introduzida, a “medicina de precisão” (TEYMOURIAN *et al.*, 2020). Em particular, ser capaz de prever a resposta a uma determinada terapia, o que tem sido chamado de “escolher o tratamento certo para o paciente certo, na dose certa e na hora certa”, é um dos pilares da medicina de precisão, e talvez o mais importante (TEYMOURIAN *et al.*, 2020; ATES *et al.*, 2021; DASGUPTA & KRASOWSKI, 2020a). De especial importância nos últimos anos, a “medicina de precisão” tem sido proposta como uma nova estratégia destinada a personalizar a dosagem dos fármacos de forma a estabelecer uma maior eficácia terapêutica e minimizar os efeitos colaterais dos medicamentos (TEYMOURIAN *et al.*, 2020; ATES *et al.*, 2021; DASGUPTA & KRASOWSKI, 2020a).

[004] Especificamente, o monitoramento terapêutico de medicamentos do inglês *Therapeutic drug monitoring* (TDM) consiste em rastrear os níveis dos fármacos no sangue e/ou plasma, ou em outros biofluidos corporais nos quais estão presentes estas drogas, com a finalidade de obter uma resposta individualizada do paciente a determinado fármaco, de forma a personalizar o tratamento para cada tipo de paciente levando em consideração o metabolismo e absorção destas drogas (TEYMOURIAN *et al.*, 2020; ATES *et al.*, 2021;

DASGUPTA & KRASOWSKI, 2020a). No entanto, a maior parte do monitoramento terapêutico de medicamentos existentes, baseia-se em análises sanguíneas, o que muitas vezes o inviabiliza devido aos custos com amostragem, coleta, armazenamento, transporte, processamento e análise em laboratório centralizado e especializado, o que faz com que estas análises não sejam acessíveis para os tratamentos medicamentosos existentes (TEYMOURIAN *et al.*, 2020; ATES *et al.*, 2021; MOON *et al.*, 2021). Alternativamente, outros biofluidos corporais não invasivos, como suor (RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, 2022), lágrimas (SEMPIONATTO *et al.*, 2020), fluido intersticial (TEHRANI *et al.*, 2022), respiração (MAIER *et al.*, 2019) e saliva (SEMPIONATTO *et al.*, 2020) são excelentes candidatos para substituir o sangue para fazer o rastreamento destas drogas (ATES *et al.*, 2021). Neste contexto, a saliva apresenta-se como um fluido biológico promissor para fazer o monitoramento de fármacos, uma vez que: i) reflete os níveis de analito livre; ii) é mais fácil de coletar do que o sangue; e iii) as análises são mais confortáveis para o paciente. Além disso, as ferramentas analíticas podem ser projetadas mais facilmente para análise de amostras de saliva, não requerendo tratamento de amostra (ATES *et al.*, 2021a; ATES *et al.*, 2020; ATES *et al.*, 2021b).

[005] Atualmente, os métodos mais utilizados para fazer o monitoramento de fármacos se baseiam em técnicas como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (SCOGNAMIGLIO *et al.*, 2014). No entanto, esta técnica apresenta um alto custo, demanda mão de obra especializada e um tempo muito longo entre as análises e obtenção dos resultados (ARDUINI *et al.*, 2014). Neste contexto, os

sensores eletroquímicos utilizando amostras de saliva são uma interessante alternativa as técnicas convencionais, pois a partir de análises confiáveis, simples e robustas fornecem informação analítica rápida, *in loco* e com um baixo custo (ATTAALLAH *et al.*, 2020). Na literatura já existem alguns trabalhos que reportam o uso de biossensores e sensores eletroquímicos para detectar vitamina C (RUIZ-VALDEPEÑAS *et al.*, 2021), antibióticos (WU *et al.*, 2022), vitamina C e D (RUIZ-VALDEPEÑAS *et al.*, 2021), irinotecano e doxorrubicina (WU *et al.*, 2022) e levodopa (MOON *et al.*, 2021).

[006] O uso de biossensores é interessante devido a sua alta especificidade, porém este tipo de dispositivo apresenta algumas limitações como por exemplo, estabilidade de armazenamento, e alto custo de elementos biológicos como enzimas e anticorpos, o que acaba encarecendo todo o processo. Em contrapartida, o emprego de sensores eletroquímicos para o monitoramento não invasivo de fármacos pode se tornar uma ferramenta poderosa para atingir os paradigmas da medicina de precisão (PASCHOALIN *et al.*, 2022). Estes dispositivos fornecem uma resposta rápida, com baixo custo, análises descentralizadas, e são mais confiáveis devido à alta estabilidade, robustez e escalabilidade de produção (RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, 2021). Atualmente os analgésicos estão entre os fármacos mais comumente utilizados pela população para tratamento de dores, sendo crucial a projeção de novas tecnologias para seu monitoramento não invasivo e individualizado.

[007] Adicionalmente, verifica-se que na literatura existem dispositivos eletroquímicos para detecção de paracetamol, porém os estudos de paracetamol na saliva são

escassos devido aos desafios de se realizar análises na saliva humana (RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, 2022; RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2022). As amostras de saliva humana são constituídas por uma variedade de proteínas, sólidos e moléculas orgânicas que podem ser adsorvidas na área de detecção dos sensores, causando uma piora no sinal analítico. Como consequência, os trabalhos dedicados a análises em saliva utilizam uma série de pré-tratamentos de amostra para mitigar a interferência da matriz no sinal analítico, o que insere etapas adicionais no protocolo (LIN *et al.*, 2020). Em contrapartida, a presente invenção utiliza a saliva sem nenhum tipo de tratamento preliminar, apenas são necessários alguns minutos após a coleta para que o corpo sólido presente na amostra decante naturalmente e sejam executadas as análises. Ou seja, considerando a importância e a necessidade de monitoramento dos níveis de paracetamol para evitar hepatotoxicidade e nefrotoxicidade graves, há demandas crescentes pelo desenvolvimento de sensores eletroquímicos eficazes para um monitoramento rápido, fácil e confiável em ambientes descentralizados usando fluidos biológicos coletados de forma não-invasiva, como a saliva.

ESTADO DA TÉCNICA

[008] O documento em nome de SÁ *et al.*, intitulado "FLEXIBLE CARBON ELECTRODES FOR ELECTROCHEMICAL DETECTION OF BISPHENOL-A, HYDROQUINONE AND CATECHOL IN WATER SAMPLES", refere-se ao desenvolvimento de um sensor eletroquímico simples e barato para detectar hidroquinona, catecol e bisfenol-A (BPA) em amostras de água usando eletrodos serigrafados flexíveis descartáveis. Os dispositivos foram

feitos em substratos flexíveis de PET usando tecnologia de serigrafia. As características da superfície do carbono, combinadas com o desempenho eletroanalítico, apontaram para aumento de condutividade e sensibilidade, induzidas pelo pré-tratamento do eletrodo em solução 0,1 mol L⁻¹ H₂SO₄.

[009] Entretanto, o documento de SÁ *et al.* não apresenta similaridade com a presente invenção principalmente em relação ao método de detecção, materiais utilizados, pré-tratamento eletroquímico e analitos detectados. No documento, os autores reportam o pré-tratamento eletroquímico dos eletrodos de carbono em presença de solução 0,1 mol L⁻¹ H₂SO₄ utilizando a técnica de cronoamperometria a partir da aplicação de um potencial fixo de +2,5 V por 120 segundos, promovendo assim pouca melhora no desempenho analítico para a detecção de poluentes ambientais incluindo, hidroquinona, catecol e BPA. O pré-tratamento eletroquímico reportado pelos autores, apesar de também empregar ácido sulfúrico difere-se na técnica eletroquímica utilizada para fazê-lo, visto que na presente invenção, utiliza-se a técnica de voltametria cíclica para realização do pré-tratamento em presença de solução de ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹ em um intervalo de potencial de -2,5 a +2,5 V a uma velocidade de 100 mV s⁻¹ por 2 ciclos. O protocolo utilizado para fazer o pré-tratamento eletroquímico não consiste apenas na solução de ácido sulfúrico, mas também na técnica eletroquímica utilizada, sendo que ambos influenciam no desempenho analítico e seletividade do sensor eletroquímico. O emprego do pré-tratamento eletroquímico em eletrodos de carbono pode promover um aumento de área ativa ou modificações químicas

na superfície provocando uma melhora na cinética de transferência eletrônica. Ou seja, o uso de diferentes técnicas pode promover mudanças significantes na área de detecção e, portanto, no resultado analítico. Na presente invenção, foi demonstrado que o pré-tratamento eletroquímico atuou na remoção de impurezas e compostos orgânicos oriundos do processo de fabricação da tinta condutiva de carbono.

[010] Não obstante, a presente invenção tem por objetivo o monitoramento contínuo dos níveis de paracetamol (ou acetaminofeno) em saliva, ou seja, uma aplicação distinta. No documento de SÁ *et al.*, o paracetamol foi usado como um possível interferente na análise de Bisfenol-A, hidroquinona e catecol em amostras de água. As outras diferenças são o suporte/substrato flexível usado (PET), a tinta condutora de carbono (BQ221) foi adquirida da Dupont EUA), o tratamento eletroquímico (cronoamperometria aplicando um potencial fixo de +2,5 V por 120 s em solução de ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹). Em suma, há diferenças significativas entre os dispositivos referenciados no referido documento e o proposto na presente invenção, tanto no pré-tratamento eletroquímico empregado, tipo de amostras, tinta condutiva e analitos detectados.

[011] O documento em nome de AZEREDO *et al.*, intitulado "SCREEN-PRINTED NICKEL-CERIUM HYDROXIDE SENSOR FOR ACETAMINOPHEN DETERMINATION IN BODY FLUIDS", propõe um eletrodo serigrafado apresentando seletividade, baixo limite de detecção e ampla faixa linear para detecção de paracetamol, demonstrando capacidade de detecção de analitos específicos em fluidos corporais, dentre outros, saliva. Entretanto, o documento de AZEREDO *et al.* não apresenta

similaridade com o sensor para o monitoramento contínuo de paracetamol em amostras de saliva, primeiramente, devido ao fato de a presente invenção reportar o uso de um sensor eletroquímico simples e de baixo custo para fazer o monitoramento dos níveis fisiológicos do paracetamol na saliva não diluída, a fim de estabelecer perfis de concentração temporais e individualizados dos pacientes após a ingestão dos comprimidos. A tecnologia proposta na presente invenção visa individualizar a dosagem dos fármacos obtendo-se uma maior eficácia terapêutica e minimizando os efeitos colaterais causados por este tipo medicamento, a fim de atingir as premissas da medicina de precisão.

[012] No caso do documento de AZEREDO *et al.*, os autores utilizaram eletrodos de carbono modificados com nanopartículas de alfa-Hidróxido de níquel e cério (α -Ni_{0.9}Ce_{0.1}(OH)₂) e foi feita a detecção de paracetamol em amostras de saliva e suor fortificadas com o analito de interesse. A detecção eletroquímica de paracetamol foi conduzida em um intervalo de concentração de 100 μ M- 1000 μ M utilizando a técnica de voltametria cíclica. Devido ao emprego do material (α -Ni_{0.9}Ce_{0.1}(OH)₂) e da técnica de voltametria cíclica, os autores do artigo científico não obtiveram o desempenho analítico adequado para quantificar o paracetamol em amostras de saliva, como foi feito na presente invenção.

[013] O sensor proposto na presente invenção estimou que a concentração máxima de paracetamol na saliva foi de 143,27 μ M após 50 minutos da ingestão do comprimido, diminuindo para o nível de base de 35 μ M com o tempo. Ou seja, a arquitetura proposta por AZEREDO *et al.* não seria

capaz de detectar as concentrações presentes nas amostras de saliva, não sendo possível adaptar esta tecnologia para a aplicação pretendida na proposta em tela. Na presente invenção, a detecção eletroquímica de paracetamol só foi possível devido ao emprego de condições específicas, dentre elas, o uso de pré-tratamento eletroquímico descrito acima e ao emprego da voltametria de pulso diferencial (DPV), com os parâmetros experimentais: Amplitude de pulso de 1 à 300 mV, Passo de potencial de 0,1 até 100 mV, Tempo de modulação de 1 até 100 ms, velocidade de varredura de 1 até 100 mV s⁻¹ e intervalo de potencial de 0 a 0,5 V. Finalmente, as principais diferenças entre o documento em nome de AZEREDO *et al.* e a presente invenção são: (i) design do dispositivo; (ii) composição dos sensores: tinta de grafite de carbono (E3449) da Ercon Inc (Wareham, MA, EUA), folha de tereftalato de polietileno (PET) foi usada como substrato para fabricação e o material de eletrodo foi modificado com $\alpha\text{-Ni}_{0.9}\text{Ce}_{0.1}(\text{OH})_2$; (iii) técnica utilizada para a detecção eletroquímica, no caso voltametria cíclica; (iv) aplicação em amostras reais, no caso do documento de AZEREDO *et al.* as amostras foram contaminadas com concentrações conhecidas; (v) desempenho analítico.

[014] O documento em nome de RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, intitulado "SIMULTANEOUS, ULTRASENSITIVE DETECTION OF HYDROQUINONE, PARACETAMOL AND ESTRADIOL FOR QUALITY CONTROL OF TAP WATER WITH A SIMPLE ELECTROCHEMICAL METHOD, demonstra que eletrodos serigrafados de carbono (SPEs) podem ser usados para determinar simultaneamente a presença de alguns analitos na água da torneira, sugerindo, inclusive, um procedimento simples com voltametria cíclica (CV) em solução de ácido

sulfúrico 0,5 mol L⁻¹, como pré-tratamento do eletrodo.

[015] Além disso, no referido documento foi demonstrado que o pré-tratamento eletroquímico em potenciais anódicos e catódicos atuava na remoção de impurezas e compostos orgânicos oriundos do processo de fabricação da superfície dos eletrodos, ocasionando um aumento na área ativa e uma melhora considerável na sensibilidade das curvas analíticas para a detecção de hidroquinona, paracetamol e estradiol em amostras de água de abastecimento. Ainda, neste documento os autores fizeram sua primeira divulgação com relação ao emprego do pré-tratamento eletroquímico usando técnica de voltametria cíclica em presença de solução de ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹ em um intervalo de potencial de -2,5 a +2,5 V a uma velocidade de 100 mV s⁻¹ por 2 ciclos.

[016] No entanto, existem diferenças significantes que indicam que as condições empregadas no documento de RAYMUNDO-PEREIRA *et al.* são distintas da presente proposta. Inicialmente o referido documento apresenta eletrodos com um design e dimensões diferentes da presente proposta, ou seja, o eletrodo de trabalho (ET) tem uma área geométrica de 7,065 mm², enquanto na presente invenção 12,56 mm², e como indicado pela equação que descreve o comportamento da voltametria de pulso diferencial, a corrente de oxidação será proporcional a área geométrica.

$$(corrente)_{max} = \frac{nFAD_0^{1/2}C_0^*}{\pi^{1/2}(\tau - \tau')^{1/2}} \cdot \left(\frac{1 - \sigma}{1 + \sigma}\right)$$

[017] Portanto, ambas as superfícies não fornecem os mesmos resultados analíticos, sob mesmas condições, não significando que o documento em nome de RAYMUNDO-PEREIRA *et al.* seja capaz de monitorar o paracetamol em amostras de

saliva.

[018] Além disso, no referido documento foi utilizado um intervalo de potencial de -0,2 a 1,0 V, condição apropriada para a detecção simultânea da hidroquinona, paracetamol e estradiol, enquanto na presente invenção foi adotado um intervalo de potencial de 0 a 0,5 V, o uso de uma janela de potencial mais estreita foi fundamental na aplicação do sensor em amostras de fluidos biológicos. Ou seja, um intervalo de potencial muito grande como o utilizado no referido documento não seria uma condição favorável e ideal para determinação de paracetamol, pois, as amostras de fluidos biológicos contêm uma série de compostos orgânicos que podem oxidar e interferir ou mitigar o sinal analítico do analito de interesse na amostra. Não obstante, as propostas se diferem também na aplicação das tecnologias, visto que no trabalho de RAYMUNDO-PEREIRA *et al.* foi feito o uso do sensor para a detecção de poluentes em amostras de água de abastecimento, enquanto o foco da presente proposta está no uso do sensor eletroquímico para o monitoramento contínuo de paracetamol em amostras de saliva coletadas de forma não-invasiva, a fim de estabelecer perfis de concentração temporais e individualizados dos pacientes após a ingestão dos comprimidos. Portanto, as condições experimentais, sendo elas a junção de design (área geométrica do ET), pré-tratamento eletroquímico, e um intervalo de potenciais entre 0 e 0,5 V foi o que possibilitou os resultados referentes a presente proposta, somente estas condições experimentais podem alcançar os resultados apresentados aqui.

[019] Por fim, é importante salientar que mesmo que os

parâmetros processuais tenham sido mencionados no referido documento, foi conduzido um trabalho intelectual que resultou em um novo conhecimento, isto é, visto que o potencial do pico de oxidação do paracetamol depende da faixa de varredura de potenciais principalmente do início da varredura de potenciais; e quanto maior o potencial de pico de oxidação conseqüentemente maior é o efeito de interferentes e maior será o efeito de incrustação/adsorção ou envenenamento do sensor, eventos esses indesejados em sensoriamento. Isso se justifica pelo fato de ter sido constatado que o início do intervalo de varredura de potenciais da presente invenção (0 V) foi imprescindível para o sensor apresentar detectabilidade do paracetamol em saliva no potencial de oxidação centrado em +0,29 V com alta sensibilidade, alta sensibilidade e principalmente baixo efeito de possíveis interferentes. Lembrando que 0 V não é ausência de potencial (energia), aqui zero é um valor real e inteiro de potencial, pois os potenciais podem variar de valores negativos até positivos passando pelo número zero.

[020] O documento em nome de ANDREOTTI *et al.*, 2019, intitulado DISPOSABLE AND FLEXIBLE ELECTROCHEMICAL SENSOR MADE BY RECYCLABLE MATERIAL AND LOW COST CONDUCTIVE INK propõe um dispositivo eletroquímico descartável baseado na transferência direta de uma tinta condutora de baixo custo feita de grafite e esmalte de unha na superfície de PET a partir de garrafas descartáveis. O eletrodo proposto foi avaliado em amostras ambientais, farmacêuticas e biológicas, demonstrando grande eficiência em todos os casos. Também se destaca o eletrodo de baixíssimo custo por utilizar material reciclável.

[021] Entretanto, o documento de ANDREOTTI *et al.* não apresenta similaridade com a presente invenção principalmente com relação aos materiais utilizados, composição do sensor, propriedades do dispositivo, design do eletrodo, analitos detectados e aplicação do sensor. No referido artigo, os autores fabricaram uma tinta condutora de carbono utilizando grafite e esmalte de unha e fazem sua transferência para uma superfície de garrafa PET de refrigerante cortada utilizando adesivos personalizados em impressora de corte. Na presente invenção, é utilizada uma tinta de carbono da Henkel (423SS E&C) que é feita a partir de resina termoplástica, grafite e nanopartículas de carbono, sendo esta tinta transferida para folhas de transparência de poliéster utilizando o processo de serigrafia. Além disso, a tinta de carbono utilizada na presente invenção apresenta composição e características distintas daquelas do referido documento, como viscosidade, condutividade, densidade, cobertura teórica, adesão e temperatura de cura, essas diferenças afetam de maneira significativa nas propriedades e aplicação como sensor eletroquímico. Além disso, o método utilizado para fabricação dos dispositivos eletroquímicos não é o mesmo, visto que na presente invenção foi empregada a técnica de serigrafia na qual a tinta de carbono foi espalhada em uma tela constituída de malha de monofilamento de poliéster 77 fios por centímetro personalizada com o desenho dos eletrodos com posterior transferência para a transparência de poliéster utilizando um rodo de poliuretano. Essa alteração em procedimento experimental resulta em eletrodos de carbono com diferenças significantes em termos de condutividade e

flexibilidade o que influencia no desempenho analítico do sensor. Além destas diferenças em termos de fabricação, os autores não submeteram o dispositivo eletroquímico a nenhum tipo de pré-tratamento eletroquímico. Finalmente, em termos de aplicação os autores do documento realizam a detecção de epinefrina, dopamina e serotonina em amostras de água de abastecimento e urina sintética.

[022] Apesar de o documento em nome de GOMES, N. O., intitulado "DESENVOLVIMENTO DE DISPOSITIVOS ELETROQUÍMICOS BASEADOS EM PAPEL PARA MONITORAMENTO NÃO INVASIVO DE LACTATO EM SUOR", de autoria de um dos inventores da presente invenção, propor um biossensor eletroquímico descartável para detecção de lactato no suor, descrevendo condições processuais similares, tanto para a fabricação dos eletrodos impressos, com figuras semelhantes da técnica de serigrafia e eletrodos, quanto a caracterização eletroquímica, há diferenças significativas que o distancia do pedido em tela. As principais diferenças observadas neste documento em relação à presente invenção são: (i) design do dispositivo; (ii) composição dos sensores; (iii) modificação do eletrodo; (iv) impressão do eletrodo; (v) técnica eletroquímica utilizada; (vi) amostras utilizadas para detecção de lactato em amostras de suor; (vii) substrato/suporte, celulose bacteriana, em que os eletrodos foram impressos; e (viii) uso de biomolécula, a enzima lactato oxidase, para detecção de lactato configurando um biossensor. Verifica-se que a presente invenção visa orientar o uso adequado de paracetamol na saliva para atingir uma medicina precisa e individualizada. Assim sendo, foram obtidos perfis temporais de paracetamol na saliva humana a partir da ingestão de

diferentes quantidades de comprimidos comerciais, o que não poderia ser alcançado a partir do documento do estado da técnica mencionado.

[023] Assim, diferente do estado da técnica, foi desenvolvida uma nova plataforma eletroquímica para individualizar a dosagem dos fármacos obtendo-se uma maior eficácia terapêutica e minimizando os efeitos colaterais causados por este tipo medicamento. O emprego de sensores eletroquímicos simples e de baixo custo para fazer o monitoramento não invasivo de drogas pode trazer avanços científicos e tecnológicos significantes para o diagnóstico clínico e tratamento individualizado podendo ser estendido para outros tipos de medicamentos. Os resultados oferecidos pela presente invenção são promissores e trazem importantes avanços no que tange o uso de sensores para avaliar os perfis de concentração de fármacos em fluidos biológicos visando dosagens personalizadas.

[024] Adicionalmente, o dispositivo e metodologias propostos na presente invenção podem ser empregados na análise descentralizada de fármacos pelos pacientes em suas residências, por laboratórios, farmácias, hospitais, pronto socorros e setores de saúde sendo passível de adaptação para projetar dispositivos vestíveis (*wearable*) para o monitoramento em tempo real de moléculas de interesse clínico. Ainda, seu emprego pode ser estendido para amostras ambientais como a de água, rio, mar, córregos e lagos, por exemplo.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[025] A Figura 1 apresenta em: (A) Imagens dos materiais utilizados para confecção dos eletrodos e esquema

do processo de serigrafia; (B) Foto do eletrodo impresso após a cura térmica e imagem de um sensor com suas dimensões e após ser feito o eletrodo de referência e delimitada a área com uma fita.

[026] A Figura 2 apresenta o conceito envolvido na detecção de paracetamol de forma não invasiva utilizando amostras de saliva humana para monitoramento de analgésicos de forma personalizada, onde A apresenta uma representação esquemática do princípio de funcionamento do dispositivo projetado para a detecção eletroanalítica do paracetamol, partindo da ingestão do comprimido até a coleta da amostra e análise do resultado. B - Perfil típico de paracetamol na saliva humana. As respostas voltamétricas obtidas para a detecção de paracetamol na saliva antes de -30 min e depois de tomar um comprimido de 750 mg em intervalos de 10 min. C - O perfil temporal do paracetamol saliva correspondente: gráficos de corrente vs. tempo e vs. concentração de paracetamol na saliva. D - Resposta do sensor de paracetamol utilizando diferentes doses analgésicas. Resposta voltamétrica do sensor registrada antes (linhas pretas) e depois de tomar comprimidos contendo 375 mg, 500 mg, 750 mg e 1000 mg paracetamol em 50 minutos e o gráfico correspondente da corrente versus quantidade de paracetamol consumido.

[027] A Figura 3 apresenta a aplicação do sensor eletroquímico para o monitoramento individualizado de paracetamol em saliva humana. A - Voltamogramas de pulso diferencial em um intervalo de concentração entre 25 e 150 μM de paracetamol e a curva de calibração correspondente. B - Estabilidade da resposta voltamétrica após 10 medições

repetitivas para sensor de paracetamol. C - Teste de estabilidade do sinal de 100 μM de paracetamol medido em intervalos de 0, 1, 2, 4 e 8 horas. Os pontos são a média e as barras de erro são o desvio padrão das medições realizadas com três dispositivos diferentes em A, B e C.

[028] A Figura 4 apresenta a investigação de seletividade do sensor eletroquímico em presença de potenciais interferentes. As respostas voltamétricas foram obtidas em presença de 0,1 M PBS (linhas pontilhadas azuis) seguidas pela adição de 2,5 μM de paracetamol e adições sucessiva de espécies interferentes sendo elas a 5,0 μM de vitamina B3, 6,25 μM de ácido úrico (UA), 5 μM de vitamina B1, 5,0 μM de vitamina B1, 5,0 μM de diclofenaco, 5,0 μM de dopamina, 2,5 μM de estradiol, 50 μM de glicose, 5,0 μM de levonorgestrel, 5,0 μM de nimesulida, 50 μM de nitrato, 5,0 μM de prolina, 50 μM de ureia, 5,7 mM de ácido láctico e 5,0 μM de amoxicilina.

[029] A Figura 5 apresenta o teste de estabilidade de armazenamento do sensor de paracetamol. A - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com solução contendo 2,5 μM de paracetamol em tampão fosfato 0,1 M com oito medidas registradas semanalmente durante 75 dias. B - Mudança na corrente de pico anódica versus tempo em dias (lado direito).

[030] A Figura 6 apresenta a caracterização analítica in vitro do sensor de paracetamol. A - Experimentos de voltametria de pulso diferencial em presença de concentrações crescentes de paracetamol entre 0 e 14 μM , juntamente com a respectiva curva analítica. B - Teste de reprodutibilidade para cinco sensores diferentes de paracetamol. Os voltamogramas de pulso diferencial foram

obtidos com solução de paracetamol 2,5 μ M. C - Imagem MEV-FEG para o sensor de paracetamol. Voltamogramas cíclicos e diagramas de Nyquist para o sensor de paracetamol antes e depois do pré-tratamento eletroquímico em solução de KCl 0,1 M contendo 5,0 mM $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ sob potencial de circuito aberto em frequências de 0,01 Hz a 100 kHz com amplitude de 10 mV. Inserção: Modelo de circuito equivalente usado para ajustar os resultados.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[031] A presente invenção refere-se a um sensor eletroquímico para o monitoramento não invasivo de fármacos, principalmente, paracetamol, em amostras de saliva. O objetivo de se monitorar a dose terapêutica de fármacos de forma individualiza, é evitar ou detectar precocemente a ocorrência de níveis tóxicos ou subterapêuticos de alguns tipos de medicamentos. Este tipo de monitoramento permite fazer o rastreamento dos níveis fisiológicos do paracetamol na saliva não diluída, a fim de estabelecer perfis de concentração temporais e individualizados dos pacientes após a ingestão dos comprimidos, bem como verificar a resposta individualizada do paciente ao medicamento e ao tratamento, tornando possível a identificação de interações medicamentosas imprevisíveis.

[032] Neste contexto, considerando que a dose ideal dos analgésicos depende do metabolismo de cada indivíduo e do seu estado de saúde (ATES *et al.*, 2021a; ATES *et al.*, 2020; SEMPIONATTO *et al.*, 2020; RUIZ-VALDEPEÑAS *et al.*, 2021; BRUCH *et al.*, 2017), avaliou-se o uso de um sensor eletroquímico para o rastreamento de paracetamol como ferramenta analítica para verificar as necessidades

individuais e orientar a dosagem e uso do paracetamol de forma adequada (SEMPIONATTO *et al.*, 2020; RUIZ-VALDEPEÑAS *et al.*, 2021; IDKAIDEK, 2017).

[033] A saliva foi escolhida como biofluido para monitoramento terapêutico de analgésicos devido ao seu fácil acesso e simplicidade na coleta, e ser uma análise não invasiva para o paciente, o que a torna promissora para execução de análises descentralizadas.

[034] O paracetamol (acetaminofeno) foi escolhido como analgésico, cujo uso é bem estabelecido pela população, para avaliar os perfis de concentração na saliva humana (DASGUPTA & KRASOWSKI, 2020b). Entretanto, outros materiais podem ser incorporados à área de detecção, conferindo assim novas propriedades aos sensores, ampliando as aplicações para outros tipos de classes de fármacos como antidepressivos, antiepiléticos, antibióticos, anti-inflamatórios, vitaminas, outros analgésicos como dipirona e ibuprofeno, e drogas de abuso etc. e outros fluidos corporais como suor, lágrima, sangue, fluido intersticial e urina. Esta invenção se enquadra na área saúde.

[035] Os sensores eletroquímicos flexíveis miniaturizados em um único sistema, apresentam um eletrodo de trabalho, um eletrodo de pseudo-referência e um eletrodo auxiliar, e são responsáveis pela detecção do sinal analítico do paracetamol presente na saliva secretada naturalmente.

FABRICAÇÃO DO SENSORES FLEXÍVEIS E DESCARTÁVEIS

[036] O design dos sensores eletroquímicos foi projetado com o auxílio do *software* AutoCAD® (Autodesk, EUA) e transferidos para uma malha de monofilamento de poliéster 77 fios por centímetro revestida com uma foto-emulsão. Para

a fabricação dos eletrodos impressos foi utilizado o processo de serigrafia (RAYMUNDO-PEREIRA et al., 2019; PASCHOALIN et al., 2022), que consiste em dispersar uma tinta condutora de carbono sobre a tela de poliéster apresentando o desenho dos eletrodos para a superfície de uma transparência de poliéster (15 x 20 cm) como descrito na Figura 1A, e transferir com o auxílio de um rodo constituído de poliuretano com dureza de 75 shores. Durante o processo de serigrafia, a transparência de poliéster (100 μm) foi colocada sob a tela, fixada na mesa, e o rodo mantido com uma inclinação de aproximadamente 45° como ilustrado na Figura 1A. Após o processo de impressão, os eletrodos foram levados a estufa a uma temperatura de 90°C por um período de 30 minutos para realização da cura térmica da tinta. Cada eletrodo impresso é constituído pelo eletrodo auxiliar (EA), eletrodo de trabalho (ET) e eletrodo de pseudo-referência (ER) (Figura 1B). Posteriormente, os eletrodos de referência foram feitos com o auxílio de uma tinta condutora de prata, com secagem a temperatura 90°C por 30 minutos (PEREIRA, 2021). Por fim, os eletrodos de trabalho têm uma área geométrica de $0,1256\text{ cm}^2$ que foi delimitada com o auxílio de uma fita de policloreto de vinila (PVC) flexível (Scotch, 3M) (Figura 1B).

[037] Posteriormente, para melhorar o desempenho do dispositivo, foi feito um processo de ativação eletroquímica que consiste em dois ciclos de voltametria cíclica em solução de ácido sulfúrico $0,5\text{ mol L}^{-1}$ em um intervalo de potencial de $-2,5$ a $+2,5\text{ V}$ a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} seguida por uma etapa de lavagem com água destilada (RAYMUNDO-PEREIRA et al., 2019). Para rastrear os níveis de paracetamol na saliva de um voluntário, um comprimido

comercial contendo 750 mg de paracetamol foi consumido e a resposta voltamétrica foi avaliada (em triplicata) em intervalos de 10 minutos por cerca de 480 min. Os experimentos voltamétricos foram obtidos utilizando a saliva humana sem nenhum tipo de tratamento preliminar ou diluição, consistindo em um protocolo simples, fácil e não invasivo (GOMES & RAYMUNDO-PEREIRA, 2023).

[038] Destaca-se que o processo de fabricação da plataforma de sensoriamento é genérico. Apesar de o dispositivo proposto apresentar a arquitetura como descrita acima, podem ser incorporados diferentes tipos de nanomateriais a área de detecção fornecendo, assim, características únicas ao dispositivo. Dentre estes, podemos citar: materiais a base de carbono (grafeno, óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido, nanotubos de paredes simples e/ou múltiplas, nanodiamante, negro de fumo), nanopartículas metálicas (platina, ouro, paládio, níquel, cobre, rutênio, vanádio, cobalto, dentre outros), polímeros condutores (polianilina, polipirrol, poliortometoxianilina), polímeros de fontes naturais (quitosana, ácido hialurônico, celulose, féculas e nanonofibras) e nanocompósitos polímero/cerâmica. Além disso, os sensores são passíveis de modificação com biomoléculas, como enzimas, proteínas, aptâmeros, antígenos, anticorpos, RNA e DNA.

[039] O protocolo adotado na presente invenção para o monitoramento contínuo de paracetamol em amostras de saliva pode ser estendido para outros tipos de fármacos como por exemplo antidepressivos, antiepiléticos, antibióticos, anti-inflamatórios, outros analgésicos como dipirona e

ibuprofeno, vitaminas e drogas de abuso etc. Além de ser possível utilizá-lo para o monitoramento dos níveis de paracetamol em outros fluidos corporais como urina, suor, fluido intersticial, lágrimas e sangue.

COLETA DE AMOSTRAS DE SALIVA HUMANA

[040] As amostras de saliva foram coletadas e analisadas em estrita conformidade com protocolo aprovado pelo comitê de ética da Universidade de São Paulo, Brasil (projeto nº 60626222.5.0000.5422) e utilizando o "método de baba passiva" relatado por Navazesh (NAVAZESH, 1993). Antes da coleta da amostra, a boca foi lavada com água. As amostras de saliva foram coletadas antes de 30, 20, 10 minutos da ingestão do comprimido e 0 (ingestão de comprimidos), 10, 20, 30, 40, 50, 70, 90, 110, 150, 210, 270 e 480 minutos após a ingestão de um comprimido contendo 750 mg de paracetamol em tubo Falcon esterilizado durante dois minutos até atingir o volume de 1,5 mL. A amostra de saliva humana coletada foi mantida em repouso e utilizada diretamente para análise, sem qualquer tratamento. Posteriormente, um volume de 100 µL de saliva foi gotejado na superfície do sensor e conduzidas as medidas eletroquímicas utilizando a técnica de DPV como ilustrado na Figura 2A. Todas as amostras de saliva humana foram analisadas imediatamente após a amostragem.

MONITORAMENTO DOS NÍVEIS DE PARACETAMOL EM AMOSTRAS DE SALIVA HUMANA

[041] Os níveis de paracetamol na saliva humana foram avaliados antes e após a ingestão de comprimidos obtidos comercialmente. Especificamente, o voluntário consumiu um comprimido comercial contendo 750 mg de paracetamol, e a resposta voltamétrica foi obtida em intervalos de 10 minutos

por cerca de 480 min. Os experimentos voltamétricos foram obtidos utilizando a saliva humana sem nenhum tipo de tratamento preliminar, consistindo em um protocolo simples. Já para as diferentes quantidades de paracetamol com tempo fixo, ao sujeito foi solicitado tomar um comprimido de paracetamol de 375, 500, 750 e 1000 mg e a resposta voltamétrica foi registrada após 50 min.

FORMAS DE DETECÇÃO

[042] A detecção pode ser feita por técnicas eletroquímicas, como espectroscopia de impedância eletroquímica, voltametria cíclica, voltametria de varredura linear, voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial. A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) é uma técnica de caracterização eletroquímica e permite estudar o comportamento geral de um sistema quando um número grande de processos intercorrelacionados ocorre em diferentes velocidades. A EIE é utilizada em ampla gama de estudos, abrangendo desde o transporte eletrônico em dispositivos semicondutores até o estudo de processos cinéticos eletroquímicos das mais diferentes naturezas. Em particular, a EIE serve para caracterização de sistemas eletroquímicos que não se alteram no tempo; em outras palavras, é uma técnica de estado estacionário. A resposta da aplicação de um pequeno sinal alternado (de corrente alternada, ac), feita em uma ampla faixa de frequências e em vários potenciais, possibilita diferenciar processos com tempos característicos distintos, que na maioria das técnicas tradicionais eletroquímicas seriam vistos como contribuições simultâneas à resposta total.

[043] Os experimentos baseados em medidas

eletroquímicas por voltametria cíclica, voltametria de varredura linear, voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial se caracterizam por processos que resultam de reações redox, que possam ocorrer num eletrodo de trabalho nanoestruturado ou não, por efeito da polarização eletroquímica, entre dois valores de potenciais, E_i e E_f . A varredura do potencial é realizada a uma velocidade constante (v). Como resposta da análise, obtém-se uma curva de intensidade de corrente (I) versus potencial aplicado (E). Há uma varredura do potencial a partir de um potencial inicial (E_i) até um potencial final (E_f), regressando ao potencial inicial, obtendo-se assim uma curva I vs. E designada de voltamograma cíclico (VC). Na voltametria de varredura linear tem-se apenas a etapa de varredura do potencial a partir de um potencial inicial (E_i) até um potencial final (E_f) (DE SOUZA *et al.*, 2003).

[044] A voltametria de pulso diferencial é baseada em medidas de corrente originadas por uma programação de potencial composta por uma sequência de pulsos de potencial. O tempo de duração é constante e os pulsos de igual amplitude são aplicados sobre uma rampa linear de potencial. A corrente é medida antes de o pulso ser aplicado e no final do pulso. Estas correntes são subtraídas, já que a primeira é a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradaica. Obtém-se, então, um gráfico do potencial da rampa linear, gerando um voltamograma de pulso diferencial (DE SOUZA *et al.*, 2003).

[045] Na voltametria de onda quadrada, a forma da curva de corrente-potencial é proveniente da polarização eletroquímica, entre dois valores de potenciais, E_i e E_f ,

com uma amplitude de pulso de potencial, que varia de acordo com uma escada de potencial com largura a (amplitude do pulso de potencial) e duração t (período). Na curva de potencial-tempo, a largura do pulso ($t/2$) é chamada t e a frequência de aplicação dos pulsos é chamada de f , dada por $(1/t)$. As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante (ΔI) de forma diferencial (DE SOUZA et al., 2003).

[046] Na presente invenção, a detecção eletroquímica foi realizada utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV) fornecendo limites de detecção de 306 nM. Já a concentração máxima ($C_{\max}$) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) do paracetamol foram de 143,27 μM e 110 min (GOMES & RAYMUNDO-PEREIRA, 2023).

[047] O dispositivo é conectado a um equipamento que faz as medidas eletroquímicas monitorando a interação entre a molécula de paracetamol e as superfícies, podendo ser um Potenciostato/galvanostato, como o da marca Autolab ou o da marca PalmSens. As medidas mostrarão variação na corrente ou impedância ou resistência de transferência de carga ou potencial, ocorridas devido à oxidação ou redução ou adsorção do paracetamol na superfície dos sensores.

[048] Desta forma foi estabelecido o perfil farmacocinético, a partir da administração de uma dose oral e única como indicado na Figura 2B. A detecção eletroquímica do paracetamol foi conduzida a partir do gotejamento de um pequeno volume de saliva na superfície do dispositivo eletroquímico, conforme ilustrado na Figura 2A. Isto permitiu a rápida transferência de elétrons entre o

paracetamol e a superfície do eletrodo de trabalho, gerando assim um sinal analítico mensurável como indicado na Figura 2A.

EXEMPLO DA INVENÇÃO

[049] Inicialmente, os sensores foram fabricados utilizando uma tinta condutora de carbono obtida comercialmente. Uma fina camada de tinta condutora de carbono foi depositada na superfície de filmes de poliéster a partir do processo de serigrafia como ilustrado na Figura 1A e 1B. Especificamente, a tinta condutiva de carbono foi dispersa sobre a tela e transferida com o auxílio de um rodo constituído de poliuretano com dureza de 75 shores (RAYMUNDO-PEREIRA *et al.*, 2019). Durante o processo de serigrafia, o filme de poliéster é colocado sob a tela, fixada na mesa, e o rodo mantido com uma inclinação de aproximadamente 45° (Figura 1A). Após o processo de impressão, os eletrodos foram levados a estufa a uma temperatura de 90 °C por um período de 30 minutos para realização da cura térmica da tinta.

[050] Posteriormente, os eletrodos de referência foram feitos com uma tinta condutora de prata, com secagem a temperatura de 90 °C por aproximadamente 30 minutos.

[051] A detecção eletroquímica do analgésico é realizada a partir de soluções de paracetamol preparadas com diferentes concentrações, por exemplo, entre $5,0 \times 10^{-7}$ e 14×10^{-6} mol L⁻¹, em solução contendo tampão fosfato. A voltametria de pulso diferencial foi a técnica utilizada com o potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 204 equipado com módulo *FRA*, gerenciado pelo software NOVA. As medidas utilizando voltametria de pulso diferencial (DPV) foram conduzidas utilizando os seguintes parâmetros: Amplitude de

pulso de 1 à 300 mV, Passo de potencial de 0,1 até 100 mV, Tempo de modulação de 1 até 100 ms, velocidade de varredura de 1 até 100 mV s⁻¹ e intervalo de potencial de 0 a 0,5 V, sendo preferencialmente, para a detecção eletroquímica do paracetamol. As medidas para otimização do sensor e construção das curvas de calibração foram realizadas em uma cela eletroquímica com um volume de 20 mL a 25 °C contendo solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH = 7,0 no qual foi feita a imersão dos eletrodos.

[052] O perfil temporal (farmacocinético) do paracetamol na saliva humana foi avaliado medindo-se a resposta de indivíduos saudáveis antes e em intervalos de 10 minutos após a ingestão de um único comprimido contendo 750 mg de paracetamol. A saliva foi coletada em tubo Falcon por um período de dois minutos (volume de 1,5 mL) e a resposta do sensor de paracetamol foi analisada diretamente em um pequeno volume de 100 µL conforme ilustrado na Figura 2A. A variação no sinal do paracetamol na saliva (ΔI) foi estimada medindo-se a corrente de pico anódica após o ajuste da linha de base, com o objetivo de corrigir as flutuações da linha de base produzidas pelos constituintes da saliva (SEMPIONATTO *et al.*, 2020; RUIZ-VALDEPEÑAS *et al.*, 2021). O sinal de corrente é proporcional às flutuações dos níveis de paracetamol na saliva devido à ingestão do comprimido (com a corrente inicial refletindo a concentração sem o comprimido).

[053] A resposta voltamétrica do monitoramento do paracetamol na saliva humana representada na Figura 2B foi medida em -30, -20, -10, 0, 10, 20, 30, 40, 50, 70, 90, 110, 150, 210, 270 e 480 min depois de tomar um comprimido

contendo 750 mg de paracetamol. O sinal máximo da corrente de paracetamol (ΔI) foi atingido após 50 minutos da ingestão do comprimido, seguido por um sinal decrescente que se aproxima da linha de base após 480 minutos.

[054] O perfil temporal do paracetamol na saliva apresentado na Figura 2C com o sinal máximo de corrente em 50 minutos seguido por um declínio em torno de 480 minutos, é semelhante ao descrito em estudos anteriores em amostras de plasma (IDKAIDEK, 2017), com a vantagem de que o método descrito não é invasivo e desconfortável para o paciente, excluindo-se a necessidade de perfurar o dedo continuamente para a coleta do sangue.

[055] Os valores de concentração foram estimados como indicado na Figura 2C, através da interpolação dos valores de corrente em uma curva de calibração construída em saliva fortificada. A Figura 2C ilustra o comportamento das flutuações na concentração de paracetamol na saliva com a variação do tempo. A concentração máxima ($C_{\max}$) é o nível mais alto de uma droga no fluido corporal, representando seu efeito máximo (WEBB *et al.*, 2011). A concentração máxima de paracetamol na saliva foi de 143,27 μM após 50 minutos da ingestão do comprimido, diminuindo para o nível de base com o tempo. O tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) é o tempo necessário para que os níveis do medicamento medidos em matrizes biológicas diminuam para metade do seu valor após uma dose única (BRUCH *et al.*, 2017; SCHRAG & REGAL, 2013). O tempo de meia-vida do paracetamol na saliva foi estimado em 110 minutos.

[056] Os resultados da detecção eletroquímica do paracetamol em saliva humana são mostrados na Figura 2 e na

Figura 3. Além disso, são apresentados os testes de seletividade e estabilidade do sensor que demonstram seu potencial para aplicação em fluidos biológicos (Figura 4 e Figura 5). As caracterizações químicas e morfológicas do dispositivo fabricado podem ser observadas na Figura 6.

CARACTERIZAÇÃO DOS DISPOSITIVOS

[057] A espectroscopia de impedância eletroquímica foi realizada utilizando o software FRA2 com amplitude de 10 mV nas frequências entre 0,01 Hz a 100 kHz, sob potencial de circuito aberto, utilizando $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ solubilizada em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Os gráficos de Nyquist foram ajustados usando o circuito equivalente de Randles $[R_s(\text{CPE}[R_{ct}Z_w])]$, onde R_s é a resistência da solução, R_{ct} é a resistência de transferência de carga, Z_w é a impedância de Warburg e CPE é um elemento de fase constante. As micrografias de MEV foram registradas usando um microscópio LEO 440 (Zeiss-Leica, modelo 7060) operado a 20 kV. As amostras foram analisadas sem metalização.

VANTAGENS DA INVENÇÃO

[058] A presente invenção apresenta as seguintes vantagens que podem levar à produção em larga escala de sensores eletroquímicos descartáveis, úteis a públicos variados:

i) O dispositivo desenvolvido permite o monitoramento não invasivo de paracetamol em amostras de fluidos biológicos;

ii) Método capaz de personalizar a dosagem de fármacos de forma a estabelecer uma maior eficácia terapêutica e minimizar os efeitos colaterais dos medicamentos;

iii) Sensores de simples manuseio que podem ser facilmente utilizados por qualquer pessoa não especializada. O resultado da análise pode ser obtido rapidamente em poucos minutos;

iv) O método proposto não requer nenhum tipo de pré-tratamento de amostra, eliminando assim etapas adicionais no protocolo analítico;

v) Os eletrodos sem nenhum tipo de modificação apresentam desempenho analítico apropriado para a detecção de paracetamol;

vi) Sensores com custo reduzido;

vii) Podem ser disponibilizados em laboratórios de análise química, clínicas, hospitais, consultórios médicos, residência dos pacientes em geral;

viii) Possibilita análise qualitativa e quantitativa de fármacos;

ix) Os dispositivos fabricados podem ser feitos em larga escala e com um baixo custo;

x) Dispositivos fabricados com procedimentos rápidos, sendo confeccionados em curto espaço de tempo;

xi) A superfície pode ser funcionalizada com nanomateriais como: nanotubos de carbono de parede simples e/ou múltiplas, grafeno, óxido de grafeno, óxido de grafeno oxidado, óxido de grafeno reduzido, negro de fumo, *carbon clack*, carbono printex, nanopartículas metálicas de ouro, platina, paládio, rutênio, níquel, cobre, ferro, vanádio e európio, podem ser usados para modificar a superfície sensorial;

xii) Funcionalização da superfície dos dispositivos com biomoléculas para confecção de biossensores

eletroquímicos, tais como enzimas, proteínas, aptâmeros, antígenos, anticorpos, RNA e DNA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[059] A. DASGUPTA, M.D. KRASOWSKI, Pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring, Therapeutic Drug Monitoring Data. (2020a) 1-17. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815849-4.00001-3>.

[060] A. DASGUPTA, M.D. KRASOWSKI, Analgesics, Therapeutic Drug Monitoring Data. (2020b) 309-330. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815849-4.00014-1>.

[061] B. LUNENFELD, P. STRATTON, The clinical consequences of an ageing world and preventive strategies, Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology. 27 (2013) 643-659. <https://doi.org/10.1016/J.BPOBGYN.2013.02.005>.

[062] C. DINCER, R. Bruch, S. Wirth, S. Schumann, G.A. Urban, Biosensors and personalized drug therapy: what does the future hold?, Expert Rev Precis Med Drug Dev. 2 (2017) 303-305. <https://doi.org/10.1080/23808993.2017.1395691>.

[063] C.G.A. da Silva, C.H. Collins, Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes, Quim Nova. 34 (2011) 665-676. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000400020>.

[064] D. MAIER, E. Laubender, A. Basavanna, S. Schumann, F. Güder, G.A. Urban, C. Dincer, Toward Continuous Monitoring of Breath Biochemistry: A Paper-Based Wearable Sensor for Real-Time Hydrogen Peroxide Measurement in Simulated Breath, ACS Sensors. 4 (2019) 2945-2951. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b01403>.

[065] D. DE SOUZA, S.A.S. Machado, L.A. Avaca,

Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos, Quim Nova. 26 (2003) 81-89. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100015>.

[066] F. ARDUINI, M. Forchielli, A. Amine, D. Neagu, I. Cacciotti, F. Nanni, D. Moscone, G. Palleschi, Screen-printed biosensor modified with carbon black nanoparticles for the determination of paraoxon based on the inhibition of butyrylcholinesterase, Microchimica Acta. 182 (2014) 643-651. <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1370-y>.

[067] F. TEHRANI, H. Teymourian, B. Wuerstle, J. Kavner, R. Patel, A. Furmidge, R. Aghavali, H. Hosseini-Toudeshki, C. Brown, F. Zhang, K. Mahato, Z. Li, A. Barfidokht, L. Yin, P. Warren, N. Huang, Z. Patel, P.P. Mercier, J. Wang, An integrated wearable microneedle array for the continuous monitoring of multiple biomarkers in interstitial fluid, Nature Biomedical Engineering. (2022). <https://doi.org/10.1038/s41551-022-00887-1>.

[068] H.C. ATES, J.A. Roberts, J. Lipman, A.E.G. Cass, G.A. Urban, C. Dincer, On-Site Therapeutic Drug Monitoring, Trends in Biotechnology. 38 (2020) 1262-1277. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2020.03.001>.

[069] H.C. ATES, H. Mohsenin, C. Wenzel, R.T. Glatz, H.J. Wagner, R. Bruch, N. Höfflin, S. Spassov, L. Streicher, S. Lozano-Zahonero, B. Flamm, R. Trittler, M.J. Hug, M. Köhn, J. Schmidt, S. Schumann, G.A. Urban, W. Weber, C. Dincer, Biosensor-Enabled Multiplexed On-Site Therapeutic Drug Monitoring of Antibiotics, Advanced Materials. (2021a) 2104555. <https://doi.org/10.1002/adma.202104555>.

[070] H.C. ATES, A. Brunauer, F. von Stetten, G.A. Urban, F. Güder, A. Merkoçi, S.M. Früh, C. Dincer, Integrated

Devices for Non-Invasive Diagnostics, Advanced Functional Materials. 31 (2021b) 2010388. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/adfm.202010388>.

[071] H. TEYMOURIAN, M. Parrilla, J.R. Sempionatto, N.F. Montiel, A. Barfidokht, R. Van Echelpoel, K. De Wael, J. Wang, Wearable Electrochemical Sensors for the Monitoring and Screening of Drugs, ACS Sensors. (2020). <https://doi.org/10.1021/acssensors.0c01318>.

[072] J.M. MOON, H. Teymourian, E. De la Paz, J.R. Sempionatto, K. Mahato, T. Sonasard, N. Huang, K. Longardner, I. Litvan, J. Wang, Non-Invasive Sweat-Based Tracking of L-Dopa Pharmacokinetic Profiles Following an Oral Tablet Administration, Angewandte Chemie - International Edition. 60 (2021). <https://doi.org/10.1002/anie.202106674>.

[073] J.R. SEMPIONATTO, A.A. Khorshed, A. Ahmed, A.N. De Loyola E Silva, A. Barfidokht, L. Yin, K.Y. Goud, M.A. Mohamed, E. Bailey, J. May, C. Aebischer, C. Chatelle, J. Wang, Epidermal Enzymatic Biosensors for Sweat Vitamin C: Toward Personalized Nutrition, ACS Sensors. 5 (2020) 1804-1813. <https://doi.org/10.1021/acssensors.0c00604>.

[074] L.R.G. SILVA, M. de L.S. Vasconcellos, R. de Q. Ferreira, A portable electroanalytical procedure to determine paracetamol in organic fertilizers, Ionics. 28 (2022) 1451-1460. <https://doi.org/10.1007/s11581-021-04388-0>.

[075] L. ZHAO, T.H. Ren, D.D. Wang, Clinical pharmacology considerations in biologics development, Acta Pharmacologica Sinica. 33 (2012) 1339-1347. <https://doi.org/10.1038/aps.2012.51>.

[076] M. NAVAZESH, Methods for Collecting Saliva,

Annals of the New York Academy of Sciences. 694 (1993) 72-77. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18343.x>.

[077] M. SANDVOSS, B. Bardsley, T.L. Beck, E. Lee-Smith, S.E. North, P.J. Moore, A.J. Edwards, R.J. Smith, HPLC-SPE-NMR in pharmaceutical development: Capabilities and applications, Magnetic Resonance in Chemistry. 43 (2005) 762-770. <https://doi.org/10.1002/mrc.1615>.

[078] M. SCHRAG, K. REGAL, Chapter 3 - Pharmacokinetics and Toxicokinetics, in: A.S. Faqi (Ed.), A Comprehensive Guide to Toxicology in Preclinical Drug Development, Academic Press, 2013: pp. 31-68. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387815-1.00003-4>.

[079] N.M. IDKAIDEK, Comparative assessment of saliva and plasma for drug bioavailability and bioequivalence studies in humans, Saudi Pharmaceutical Journal. 25 (2017) 671-675. <https://doi.org/10.1016/J.JSPS.2016.10.002>.

[080] N.O. GOMES, P.A. RAYMUNDO-PEREIRA, On-Site Therapeutic Drug Monitoring of Paracetamol Analgesic in Non-Invasively Collected Saliva for Personalized Medicine, Small. 19 (2023) 2206753. <https://doi.org/10.1002/sml1.202206753>.

[081] N. WEBB, Cmax, in: J.S. Kreutzer, J. DeLuca, B. Caplan (Eds.), Encyclopedia of Clinical Neuropsychology, Springer New York, New York, NY, 2011: pp. 606-607. https://doi.org/10.1007/978-0-387-79948-3_1733.

[082] P.A.R. PEREIRA, Flexible and integrated dual carbon sensor for multiplexed detection of nonylphenol and paroxetine in tap water samples, Microchimica Acta. (2021)

1-10. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05024-4>.

[083] P.A. RAYMUNDO-PEREIRA, N.O. Gomes, S.A.S. Machado, O.N. Oliveira, Simultaneous, ultrasensitive detection of hydroquinone, paracetamol, and estradiol for quality control of tap water with a simple electrochemical method, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 848 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113319>.

[084] P.A. RAYMUNDO-PEREIRA, N.O. Gomes, F.M. Shimizu, S.A.S. Machado, O.N. Oliveira, Selective and sensitive multiplexed detection of pesticides in food samples using wearable, flexible glove-embedded non-enzymatic sensors, *Chemical Engineering Journal*. 408 (2021) 127279. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127279>.

[085] P.A. RAYMUNDO-PEREIRA, N.O. Gomes, S.A.S. Machado, O.N. Oliveira, Wearable glove-embedded sensors for therapeutic drug monitoring in sweat for personalized medicine, *Chemical Engineering Journal*. 435 (2022) 135047. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2022.135047>.

[086] R. ATTAALLAH, A. Antonacci, V. Mazzaracchio, D. Moscone, G. Palleschi, F. Arduini, A. Amine, V. Scognamiglio, Carbon black nanoparticles to sense algae oxygen evolution for herbicides detection: Atrazine as a case study, *Biosens Bioelectron*. 159 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112203>.

[087] R. BRUCH, C. Chatelle, A. Kling, B. Rebmann, S. Wirth, S. Schumann, W. Weber, C. Dincer, G. Urban, Clinical on-site monitoring of β -lactam antibiotics for a personalized antibiotherapy, *Scientific Reports*. 7 (2017) 3127. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03338-z>.

[088] R.T. PASCHOALIN, N.O. Gomes, G.F. Almeida, S.

Bilatto, C.S. Farinas, S.A.S. Machado, L.H.C. Mattoso, O.N. Oliveira, P.A. Raymundo-Pereira, Wearable sensors made with solution-blow spinning poly(lactic acid) for non-enzymatic pesticide detection in agriculture and food safety, *Biosensors and Bioelectronics*. 199 (2022) 113875. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113875>.

[089] S. LIN, W. Yu, B. Wang, Y. Zhao, K. En, J. Zhu, X. Cheng, C. Zhou, H. Lin, Z. Wang, H. Hojaiji, C. Yeung, C. Milla, R.W. Davis, Noninvasive wearable electroactive pharmaceutical monitoring for personalized therapeutics, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 117 (2020) 19017-19025. <https://doi.org/10.1073/pnas.2009979117>.

[090] V. RUIZ-VALDEPEÑAS Montiel, J.R. Sempionatto, E. Vargas, E. Bailey, J. May, A. Bulbarello, A. Düsterloh, N. Matusheski, J. Wang, Decentralized vitamin C & D dual biosensor chip: Toward personalized immune system support, *Biosensors and Bioelectronics*. 194 (2021) 113590. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2021.113590>.

[091] V. SCOGNAMIGLIO, F. Arduini, G. Palleschi, G. Rea, Biosensing technology for sustainable food safety, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 62 (2014) 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.07.007>.

[092] Y. WU, F. Tehrani, H. Teymourian, J. Mack, A. Shaver, M. Reynoso, J. Kavner, N. Huang, A. Furmidge, A. Duvvuri, Y. Nie, L.M. Laffel, F.J. Doyle, M.-E. Patti, E. Dassau, J. Wang, N. Arroyo-Currás, Microneedle Aptamer-Based Sensors for Continuous, Real-Time Therapeutic Drug Monitoring, *Analytical Chemistry*. 94 (2022) 8335-8345. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c00829>.

REIVINDICAÇÕES

1. Sensor eletroquímico **caracterizado** pelo fato de que compreende eletrodo auxiliar (EA), eletrodo de trabalho (ET) e eletrodo de pseudo-referência (ER), em que:

- os eletrodos são impressos com tinta condutora de carbono em diferentes substratos/suporte, principalmente, grafite, nanotubos de carbono de parede simples e múltiplas, grafeno, óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido, fulereno, negro de fumo (carbon black), carbono printex; e nanopartículas de platina, ouro, níquel, cobalto, rutênio, cobre, ferro, vanádio;

- os eletrodos de trabalho apresentam nanomateriais incorporados na superfície, dentre os quais aqueles selecionados do grupo consistindo em nanomateriais a base de carbono, materiais metálicos e poliméricos, sendo eles principalmente, grafite, nanotubos de carbono de parede simples e múltiplas, grafeno, óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido, fulereno, negro de fumo (*carbon black*), carbono printex; nanopartículas de platina, ouro, níquel, cobalto, rutênio, cobre, ferro, vanádio, polímeros condutores, como polianilina, polipirrol, poliortometoxianilina, polímeros de fontes naturais, como quitosana, ácido hialurônico, celulose, féculas e nanonofibras, e nanocompósitos polímero/cerâmica, preferencialmente os nanomateriais a base de carbono;

- a espessura dos eletrodos de carbono, desconsiderando o poliéster, é de 17,9 micromêtros; sendo a espessura do poliéster de 100 micromêtros;

- o eletrodo de trabalho apresenta uma área geométrica de 12,56 mm² sendo delimitada com o auxílio de uma fita de

policloreto de vinila (PVC) flexível;

- o sensor tem dimensões de 2,5 cm de comprimento e 1,0 cm de largura; e

- o sensor apresenta uma resistência de transferência de carga de 476 ohms.

2. Sensor, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a funcionalização da superfície dos eletrodos com a camada de nanomateriais permite a imobilização de biomoléculas orgânicas e inorgânicas, principalmente enzimas, proteínas, aptâmeros, antígenos, anticorpos, RNA e DNA.

3. Uso do sensor eletroquímico conforme definido na reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de ser para a detecção e rastreamento de um analgésico, principalmente, paracetamol, diretamente em amostras de fluidos biológicos, principalmente, de saliva humana não tratada.

4. Uso, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato de que a detecção é realizada por técnicas eletroquímicas, principalmente espectroscopia de impedância eletroquímica, voltametria cíclica, voltametria de varredura linear, voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial, e preferencialmente voltametria de pulso diferencial.

5. Uso, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** pelo fato de que a voltametria de pulso diferencial apresenta os seguintes parâmetros: Amplitude de pulso de 1 à 300 mV, Passo de potencial de 0,1 até 100 mV, Tempo de modulação de 1 até 100 ms, velocidade de varredura de 1 até 100 mV s⁻¹ e intervalo de potencial de 0 a 0,5 V.

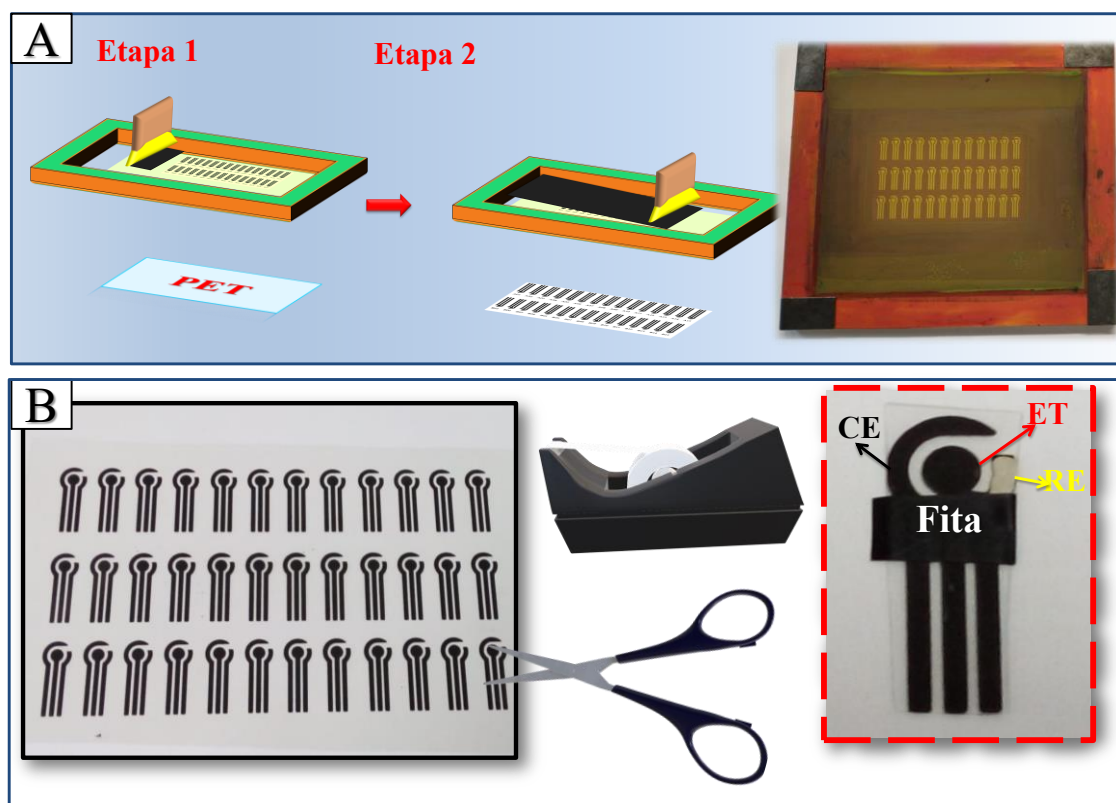


Figura 1

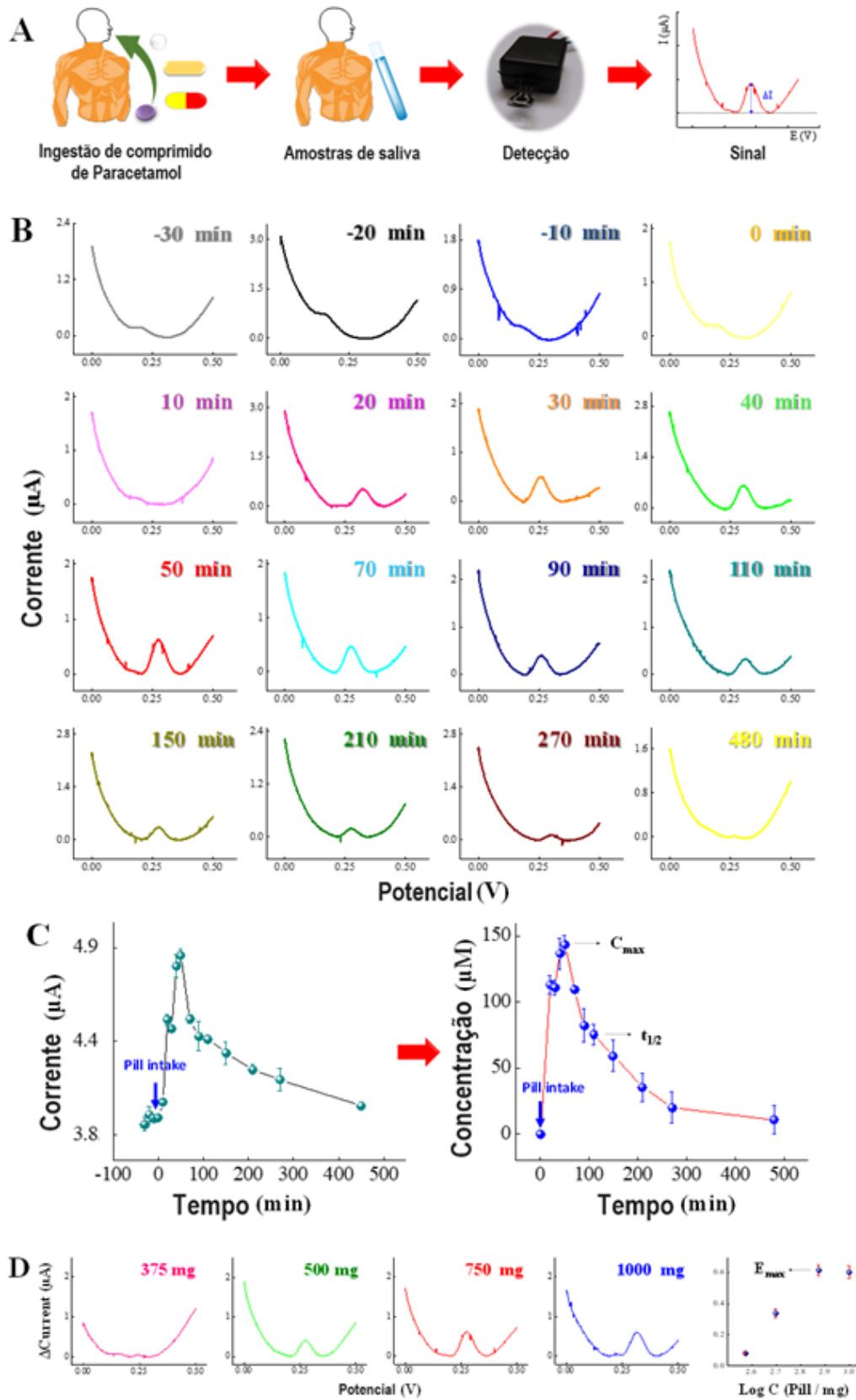


Figura 2

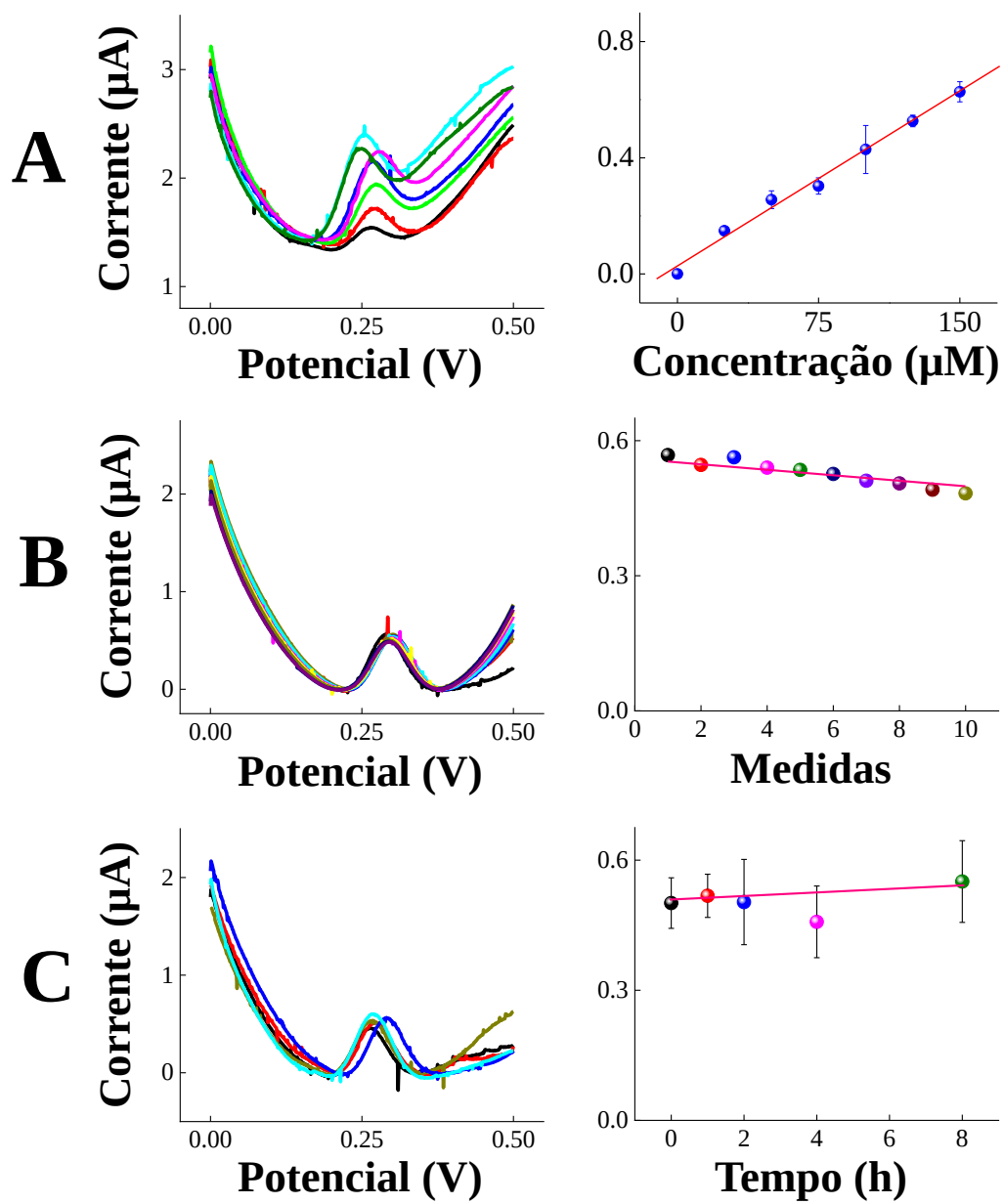


Figura 3

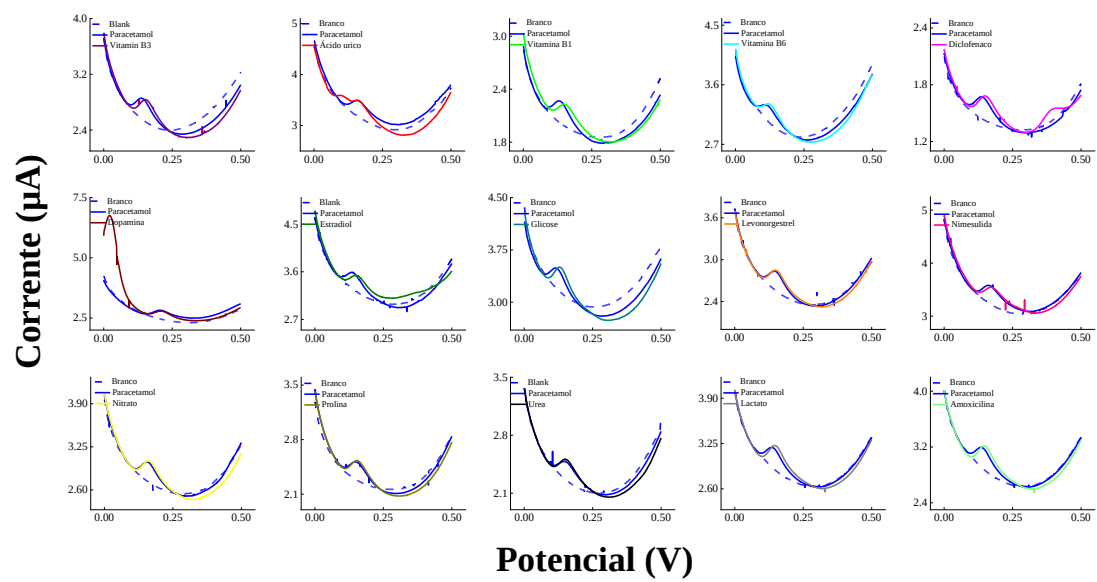


Figura 4

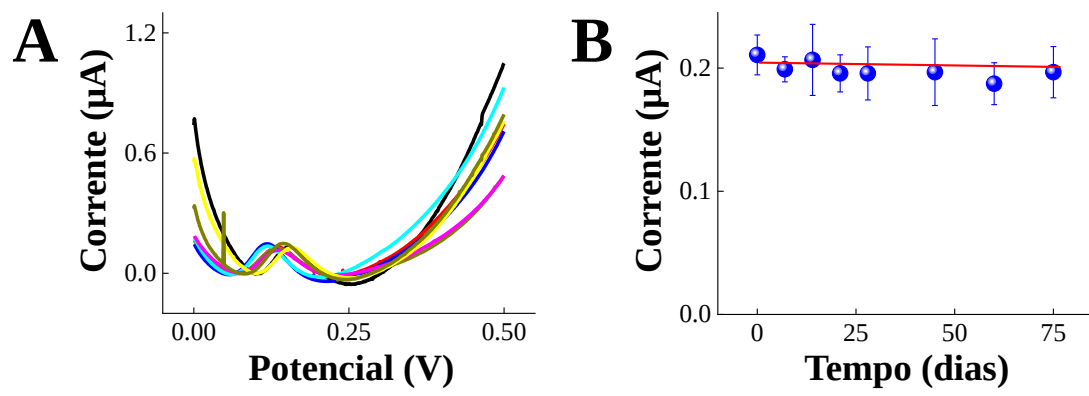


Figura 5

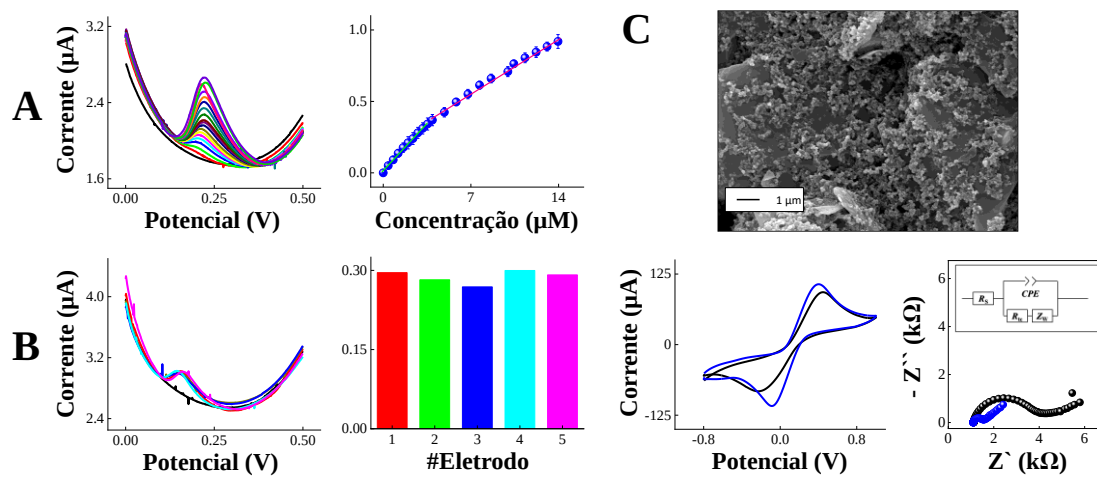


Figura 6

RESUMO**SENSOR ELETROQUÍMICO E SEUS USOS**

A presente patente refere-se a sensores eletroquímicos descartáveis para o monitoramento e avaliação dos perfis de concentração de fármacos em amostras de saliva humana. O sensor eletroquímico desenvolvido apresenta simplicidade, baixo custo, portabilidade, estabilidade, robustez e potencial para serem executadas análises descentralizadas, podendo ser utilizado para fazer a detecção e rastreamento de paracetamol, um analgésico amplamente utilizado, diretamente em amostras de saliva humana não tratada. Os resultados demonstraram o potencial do uso de dispositivos eletroquímicos como uma ferramenta analítica não invasiva para auxiliar a medicina personalizada no tratamento medicamentoso, de forma a detectar a substância ativa, estabelecendo perfis de concentração nos fluidos biológicos e assim corrigir a insuficiência na absorção do medicamento para atender às necessidades individuais, evitando assim overdoses, efeitos colaterais e intoxicações.