



Marcelo Henrique Faria Pereira

Resíduos de antidiislipidémicos em águas: atorvastatina, bezafibrato, gemfibrozil e sinvastatina

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Celeste Matos Lino e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Junho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Marcelo Henrique Faria Pereira

Resíduos de antidiislipidémicos em águas: atorvastatina, bezafibrato, gemfibrozil e sinvastatina

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Celeste Matos Lino e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Junho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Declaração de Integridade

Eu, Marcelo Henrique Faria Pereira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010157928, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, de de 2015.

(Marcelo Henrique Faria Pereira)

Orientador da Monografia

(Professora Doutora Celeste de Matos Lino)

Aluno

(Marcelo Henrique Faria Pereira)

Agradecimentos

Quando iniciei este percurso a ideia era a obtenção de um grau académico superior numa área que me fascina desde muito novo. Agora que estou no final sei que obtive muito mais do que esse simples grau.

Em primeiro lugar quero saudar os meus pais pois sem eles tudo isto não teria sido possível. Ajudaram sempre em tudo o que estava ao seu alcance e tentaram guiar-me sempre que eu parecia mais confuso, é a eles a quem devo esta conquista. Ao mesmo tempo umas palavras de apreço para a minha “Pequenina” que, mesmo sem saber, me ajudou muitas vezes, que se juntou a mim na cidade do conhecimento para fazer o seu caminho e que trazia consigo sempre um pedaço de casa para ajudar com as saudades. Não esqueço também todos os outros membros da família que comigo partilharam muitos dos momentos mais marcantes destes 5 anos.

Na cidade que me acolheu tive a oportunidade de respirar cultura a toda a hora e isso contribuiu para ser agora uma pessoa mais rica e conhecedora de muitas das tradições que poucos têm o privilégio de levar para a vida.

Durante o meu percurso fiz muitas amizades. Obviamente, por receio de me esquecer de alguma, não as vou nomear, contudo ficam as minhas palavras de apreço para os que em muitos momentos foram bem mais do que meros amigos. Para os amigos de casa, da Ala do Conhecimento e da Cultura, deixo um muito obrigado pois mesmo longe da minha, na nossa, nunca deixei de me sentir em casa.

Neste último semestre contei com a preciosa ajuda da Professora Doutora Celeste M. Lino, que se mostrou sempre disponível e receptiva a ajudar-me com tudo o que precisei. Deixo a garantia de fazer a mesma escolha se o tempo voltasse atrás.

Por fim não quero deixar de agradecer ao corpo docente, assim como a todos os funcionários com que me cruzei e que também me ajudaram a conseguir chamar “Casa” à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

A todos, muito obrigado!

*“The answer my friend, is blowing in the wind,
The answer is blowing in the wind...”*

Bob Dylan

Índice

Abreviaturas.....	6
Resumo e Abstract.....	7
1. Introdução.....	8
2. Compostos em análise.....	8
3. Presença em águas.....	11
4. Metodologias analíticas.....	14
5. Conclusão.....	19
6. Bibliografia.....	20

Abreviaturas

ATO – atorvastatina

BEZ – bezafibrato

ETAR – estação de tratamento de águas residuais

GEM – gemfibrozil

HDL – lipoproteínas de alta densidade

LC - MS – cromatografia líquida com detetor de massa

LC - MS/MS – cromatografia líquida com detetor de massa em tandem

LDL – lipoproteínas de baixa densidade

SIN – sinvastatina

Resumo

O número de estudos que tem por objetivo avaliar a presença de fármacos em águas tem aumentado nos últimos anos. O que estes revelam é um crescente acumular de substâncias ativas de vários grupos farmacológicos. Ainda se sabe pouco sobre os efeitos desta acumulação, contudo, uma vez que os fármacos são desenhados para desempenharem um certo papel farmacológico serão de esperar efeitos porventura negativos desta acumulação a longo prazo.

Um grupo bastante utilizado são antilipídicos e, como muitos outros, estes aparecem também em pequenas concentrações em vários tipos de águas.

Palavras-chave: atorvastatina, sinvastatina, bezafibrato, gemfibrozil, presença, metodologias analíticas

Abstract

The number of studies to evaluate the presence of drugs in water has increased in recent years. The results are a growing accumulation of active substances from various pharmacological groups. Little is known about the effects of this accumulation, but, since drugs are designed to play a certain pharmacological role, long-term accumulation may lead to, perhaps, negative effects. A very used group is lipid-lowering drugs and, like many others, these also appear in small concentrations in various types of waters.

Key-words: atorvastatin, sinvastatin, bezafibrate, gemfibrozil, presence, analytical methodologies

I. Introdução

Os medicamentos são desenvolvidos para curar doenças ou tratar doentes, melhorar a sua saúde e aumentar a sua esperança de vida (Cunningham, Binks e Olson, 2009).

Os medicamentos consumidos por humanos entram nos esgotos através da urina e/ou fezes chegando às estações de tratamento de águas residuais (ETARs). Após esta etapa, princípios ativos e/ou os seus metabolitos, que não são removidos, entram no ambiente aquático. A concentração destes compostos nos efluentes das ETARs e em águas de superfície é da ordem dos ng/L a µg/L.

A ocorrência e o destino dos metabolitos necessitam ainda de profunda investigação, contudo, em geral, estes terão atividade biológica menor do que o princípio ativo que lhe deu origem. O problema é que no ambiente estes podem regenerar o princípio ativo original.

Consequentemente, os organismos vivos aquáticos estarão continuamente expostos ao longo da sua vida a uma mistura complexa de compostos químicos. Esta situação já se verifica há vários anos e irá continuar, a serem confirmadas as previsões de um maior número de indivíduos a consumirem mais medicamentos. Os padrões de consumo variam dependendo tanto do país como da densidade populacional. A concentração dos compostos pode variar de acordo com a quantidade de água disponível destacando-se assim o papel importante das estações do ano, uma vez que secas severas ou intensos períodos de chuva podem induzir grandes variações. A exposição dos humanos a este risco pode resultar de duas formas, o consumo de água ou o consumo de peixes ou outros alimentos que acumularam princípios ativos ou metabolitos de medicamentos (Touraud *et al.*, 2011).

2. Compostos em análise

Um grande número de estudos confirma a relação próxima e causal entre dislipidemia e doença coronária cardíaca (Metabolism *et al.*, 1998).

No tratamento da hipercolesterolemia há um grupo que se destaca, não só pela sua eficácia mas também pela sua boa tolerância, genericamente denominado de estatinas. Existem estudos que demonstram que os compostos deste grupo reduzem a progressão e podem mesmo induzir a regressão da aterosclerose. Este resultado pode ser conseguido por diversos processos: diminuição da síntese endógena de colesterol, maior recolha e degradação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), inibição da secreção de lipoproteínas,

inibição da oxidação das LDL, inibição da expressão de recetores “scavenger”, melhoria da função endotelial e diminuição do processo inflamatório.

As estatinas podem ser obtidas por fermentação fúngica, como a sinvastatina, ou por síntese, como a atorvastatina.

Trata-se de um grupo de fármacos cujo principal órgão alvo é o fígado e a via de metabolização utilizada é a do citocromo P450. Normalmente são bem tolerados, contudo verificou-se alguma toxicidade hepática e muscular. Na presença de inibidores do metabolismo das estatinas, a sua concentração no sangue fica aumentada e tanto pode ocorrer miopatia como hepatotoxicidade (Stancu e Sima, 2001).

Outro grupo bastante utilizado no tratamento de vários tipos de dislipidémias é o denominado fibratos. Os resultados de ensaios angiográficos evidenciam que os fibratos retardam a progressão da aterosclerose coronária e normalmente são eficazes na diminuição do colesterol e concentração plasmática de triglicéridos. Contudo, a magnitude desta diminuição está dependente de dois fatores, a potência do fibrato utilizado e a condição lipoproteica do doente no início do tratamento. Os efeitos benéficos verificados são atingidos devido à diminuição da concentração plasmática de lipoproteínas ricas em triglicéridos. Paralelamente, dependendo do doente e do seu perfil lipídico, pode-se conseguir uma diminuição da concentração plasmática de LDL e um aumento da concentração plasmática de lipoproteínas de alta densidade (HDL). Estas mudanças são mais notórias se o doente apresentar no início do tratamento concentrações plasmáticas elevadas de LDL e baixas de HDL. Os mecanismos pelos quais estes resultados ocorrem são: indução da lipólise de lipoproteínas ricas em triglicéridos, diminuição da produção hepática de triglicéridos e indução da sua utilização, indução da formação de lipoproteínas de baixa densidade com maior afinidade para o seu recetor e, conseqüentemente, aumento da sua metabolização e diminuição da concentração plasmática, estimulação do transporte reverso de colesterol e aumento da produção de lipoproteínas de alta densidade, resultando no aumento da concentração plasmática destas.

Os fibratos são considerados moléculas bem toleradas com uma margem terapêutica segura. Dos principais efeitos secundários figuram mialgia, rabdomiólise (agravada em casos de terapêutica combinada com estatinas) e aumento das transaminases (Metabolism *et al.*, 1998).

O atual estudo incide sobre os antidislipidémicos que se apresentam na tabela I, na qual se referem as vendas relativas a 2013, de acordo com os dados do Infarmed. As

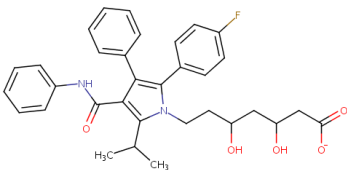
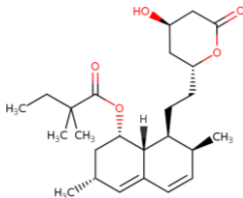
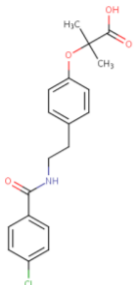
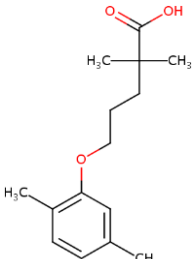
respectivas estruturas químicas bem como as características físico-químicas encontram-se esquematizadas na tabela 2.

Tabela 1 – Compostos em análise (adaptado de Deo, 2014 e Pereira et al., 2015).

Grupo Terapêutico	Fármaco	Número CAS	Vendas ^(a)
Antidislipidêmicos	Atorvastatina (ATO)	134523-00-5	1651718
	Sinvastatina (SIM)	79902-63-9	3625223
	Gemfibrozil (GEM)	25812-30-0	15903
	Bezafibrato (BEZ)	41859-67-0	-

^(a) – Dados de Portugal retirados do relatório do INFARMED de 2013

Tabela 2 – Estrutura química e características físico-químicas dos compostos em análise (retirado de DrugBank).

Fármaco	Fórmula Química	Massa molecular (g/mol)	Log Kow
<p>Atorvastatina</p> 	$C_{33}H_{34}FN_2O_5$	557.6319	5,7
<p>Sinvastatina</p> 	$C_{25}H_{38}O_5$	418.5662	4,68
<p>Bezafibrato</p> 	$C_{19}H_{20}ClNO_4$	361.819	3,99
<p>Gemfibrozil</p> 	$C_{15}H_{22}O_3$	250.3334	3,4

3. Presença em águas

A presença de vários antidiplidémicos em águas residuais, águas de superfície, como por exemplo rios, e em águas de consumo é uma realidade muito atual como se verifica da análise da tabela 3. A influência que o tratamento efetuado na ETAR tem sobre os níveis destes compostos é igualmente observável.

Em Portugal, um estudo publicado em 2014, incluiu 3 dos 4 compostos em análise. Os resultados revelam uma maior concentração de SIN no afluente com uma concentração de 2652,1 ng/L, seguida pelo BEZ com 1369,4 ng/L e pelo GEM com 298,6 ng/L. No efluente a situação alterou-se e o composto mais concentrado passou a ser o BEZ com 302,2 ng/L, seguido do GEM com 237,3 ng/L e por último a SIN com 39,3 ng/L. A maior eficácia de remoção verificou-se para a SIN, seguida do BEZ, sendo mínima para o GEM (Pereira *et al.*, 2015).

Em 2009, investigadores no Canadá publicaram um artigo com o objetivo de, entre outros antidiplidémicos, estudar a ocorrência de atorvastatina em águas residuais. Após os procedimentos experimentais obtiveram teores de 166 ng/L, no afluente, e 77 ng/L no efluente (Lee *et al.*, 2009).

No mesmo continente aparecem mais três artigos a contemplar 3 dos 4 compostos em estudo. Num estudo publicado em 2014, nos Estados Unidos da América avaliou-se a presença de GEM em 3 estações de tratamento de águas. Os resultados revelaram a presença do composto com teores médios de 934 ng/L, no afluente, e 41 ng/L no efluente (Kwon e Rodriguez, 2014).

Em 2012, no mesmo país, outro estudo demonstrou a presença de mais dois antidiplidémicos presentes em águas residuais. Os resultados revelaram para amostras de afluente concentrações de 1560 ng/L de ATO e 1230 ng/L de SIN. Contudo, no efluente as concentrações foram substancialmente mais baixas, apresentando a ATO uma concentração de 210 ng/L e a SIN 90 ng/L (Ottmar, Colosi e Smith, 2012).

Uma revisão publicada em 2014 compilou resultados de vários autores e revelou a presença de antidiplidémicos em águas de superfície. O GEM apresentou concentrações de 790 ng/L, seguido pela ATO, 7,3 ng/L, e pela SIN, 0,74 ng/L (Deo, 2014).

Tabela 3 – Teores (ng/L) dos antidiabéticos em estudo em diferentes tipos de águas.

País	Tipo de água		Resíduos de Medicamento				Bibliografia
			ATO	SIN	GEM	BEZ	
Portugal	Águas residuais	Afluente	-	2652,1	298,6	1369,4	(Pereira et al., 2015)
		Efluente	-	39,3	237,3	302,2	
Espanha (Valência)	Águas residuais	Afluente 1	110	-	1110	160	(Gracia-Lor et al., 2012)
		Efluente 1	20	-	540	70	
		Afluente 2	220	n.d.	210	80	
		Efluente 2	20	n.d.	490	60	
Canadá	Águas residuais	Afluente	166	-	-	-	(Lee et al., 2009)
		Efluente	77	-	-	-	
Estados Unidos América	Águas residuais	Afluente	-	-	934	-	(Kwon e Rodriguez, 2014)
		Efluente	-	-	41	-	
Espanha (rio Turia)	Águas residuais	Afluente	-	-	336	53	(Carmona, Andreu e Picó, 2014)
		Efluente	-	-	460	17	
	Água de rio		-	-	77	4	
	Água de consumo		-	-	2	n.d.	
Espanha (rio Tejo)	Água de rio	Verão	-	-	11 a 320	6 a 17	(Valcárcel et al., 2013)
		Inverno	-	-	296 a 966	34 a 145	
Estados Unidos América	Água de superfície		7,3	0,74	790	-	(Deo, 2014)
Espanha (Madrid)	Água de rio (jusante de ETAR)		-	-	4130	682	(Valcárcel et al., 2011)
Estados Unidos América	Afluente		1560	1230	-	-	(Ottmar, Colosi e Smith, 2012)
	Efluente		210	90	-	-	

- não avaliado

Em Espanha, foram publicados vários artigos nos últimos anos que incluíram os antidiislipidémicos. Em 2012, foram analisadas amostras de águas residuais recolhidas na região de Valência. Os investigadores realizaram duas monitorizações, na primeira selecionaram apenas 20 compostos e na segunda alargaram para 47. Dos 4 antidiislipidémicos de interesse, na primeira monitorização a SIN não foi incluída. Quanto à presença dos outros 3 antidiislipidémicos, na primeira monitorização, aquele que apresentou maior concentração no afluente foi o GEM com 1110 ng/L, seguindo-se o BEZ com 160 ng/L e a ATO com 110 ng/L. No efluente as posições mantiveram-se sendo a concentração do GEM de 540 ng/L, do BEZ de 70 ng/L e da ATO de 20 ng/L. Na segunda monitorização, a SIN não foi detetada nem no afluente nem no efluente. Quanto ao GEM as concentrações obtidas foram de 210 ng/L no afluente e 490 ng/L no efluente. A ATO apareceu com concentrações mais elevadas no afluente, 220 ng/L, mas menores no efluente, 20 ng/L. O BEZ não sofreu grande variação nas suas concentrações e aparece com 80 ng/L no afluente e 60 ng/L no efluente (Gracia-Lor *et al.*, 2012).

Na mesma região, Valência, foram recolhidas amostras de águas residuais, amostras do rio Turia e amostras de água engarrafada destinada ao consumo humano. Depois de analisadas verificou-se a presença de BEZ e GEM. Nas águas residuais verificaram-se as concentrações mais elevadas para ambos os compostos. No afluente o GEM apresentou uma concentração de 336 ng/L e no efluente 460 ng/L. Este aumento poderá ser explicado por desconjugação de metabolitos e/ou hidrólise ou desorção de produtos de transformação dos princípios ativos. Quanto ao BEZ apresentou teores de 53 ng/L no afluente e 17 ng/L no efluente. Nas amostras de água de superfície as concentrações são inferiores sendo para o GEM de 77 ng/L e para o BEZ de 4 ng/L. Na água engarrafada, embora fosse de esperar que ambos os compostos não fossem detetados, o GEM aparece com uma concentração de 2 ng/L (Carmona *et al.*, 2014).

Em 2012 um conjunto de investigadores publicaram um artigo em que revelaram os resultados da análise de amostras de águas de superfície do rio Tejo. As amostras foram recolhidas em duas estações do ano diferentes, inverno e verão, sendo que as concentrações tanto de GEM como de BEZ foram mais elevadas no inverno, com concentrações de 296 ng/L a 966 ng/L e 34 ng/L a 145 ng/L, respetivamente. Durante o verão, as concentrações, para o GEM foram de 11 ng/L a 320 ng/L e para o BEZ de 6 ng/L a 17 ng/L (Valcárcel *et al.*, 2013).

Da análise de amostras de água do rio da região de Madrid surgiram resultados publicados em 2011, onde novamente se verificou a presença de GEM e o BEZ. Verificou-se

uma maior concentração de GEM com 4130 ng/L do que de BEZ com 682 ng/L (Valcárcel et al., 2011).

4. Metodologias analíticas

As metodologias analíticas mais atuais utilizadas na determinação de antilipídicos em diferentes tipos de águas encontram-se resumidas na tabela 4.

Os autores seguem estratégias semelhantes em quase todas as etapas, desde a recolha até à deteção e quantificação das amostras.

As condições de recolha, assim como os recipientes utilizados, dependeram do tipo de água a analisar e da opção de cada investigador. Contudo, aquilo que foi transversal em todos os procedimentos foi o cuidado na conservação das amostras e curto espaço de tempo que decorreu entre a recolha e a análise. No que à conservação diz respeito todos os investigadores optaram por refrigerar as amostras durante o transporte e alguns optaram mesmo por congelar as amostras até ao momento da análise.

Na preparação das amostras para análise a maior parte dos investigadores optou por realizar uma filtração. Embora com largura de malha diferentes, os filtros mais utilizados foram filtros de fibras de vidro.

Em todos os casos o procedimento que se seguiu foi uma purificação recorrendo a colunas de extração em fase sólida. Todos os autores optaram por colunas Oasis HLB (200 mg, 6 mL), exceto os investigadores que utilizaram amostras recolhidas em Portugal que optaram por colunas Oasis MAX (500 mg, 6 mL) (Pereira et al., 2015) e os que utilizaram amostras do rio Turia que recorreram a colunas Strata-X 33U (200 mg, 6 mL) (Carmona et al., 2014).

No que respeita à deteção e quantificação todos os investigadores foram unânimes na escolha da estratégia a adotar e todos realizaram cromatografia líquida com detetores de massa ou detetores de massa em *tandem*. Embora a escolha das colunas tenha sido bastante diversificada, tanto o fluxo como os volumes de injeção foram semelhantes variando apenas de 0,20 mL/min a 0,30 mL/min e de 10 µL a 20 µL, respetivamente (Tabela 4).

Tabela 4 – Metodologias analíticas usadas na determinação de antidislipídemicos em águas.

Tipo de água	Recolha	Extração/Purificação	Deteção/Quantificação	Bibliografia
<p>Afluente e efluente de ETARs (n=15)</p>	<p>Recolha: recipientes de polietileno de alta densidade. Refrigeração durante o transporte. Congelamento aquando da sua chegada ao laboratório.</p>	<p>Acidificação com ácido clorídrico a pH 2 (para remover partículas em suspensão).</p> <p>Filtração por filtro de microfibras de vidro de 0,45 µm, e filtros de membrana poliamida de 0.2 µm.</p> <p>Extração em fase sólida (SPE) com colunas Oasis MAX (500 mg, 6 mL):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Condicionamento com 6 mL de metanol e 3 mL água Milli-Q a pH 2. - Eluição com 2 vezes 3 mL de metanol. - Evaporação do eluído à secura a 45 °C sob corrente suave de azoto. - Redissolução do resíduo em 200 µL de metanol/água Milli-Q (35:65 v/v). 	<p>LC- MS/MS</p> <p>Coluna Pursuit UPS C18 (2.1mm d.i. x 50 mm, 2.4mm).</p> <p>Fase móvel: gradiente de metanol e ácido fórmico 10 mM em água Milli-Q.</p> <p>Fluxo: 300 µL /min Volume injeção: 10 µL</p>	<p>(Pereira et al., 2015)</p>
<p>Afluente e efluente de ETARs (n=42, 1ª recolha) (n=14, 2ª recolha)</p>	<p>Recolha de amostra composta de 24 h não tratada (afluente) e tratada (efluente). Amostras congeladas (-18 °C) até análise.</p>	<p>Extração fase sólida com colunas Oasis HLB (60 mg):</p> <ul style="list-style-type: none"> - 100 mL de amostra enriquecida com mistura de solução de trabalho de padrão interno marcado isotopicamente. - Eluição com 5 mL de metanol. - Extrato foi evaporado e reconstituído com 1 mL de metanol – água (10:90, v/v) 	<p>LC-MS/MS</p> <p>1ª Monitorização: Coluna Acquity UPLC BEH (2.1mm d.i. x 50 mm, 1.7µm).</p> <p>2ª Monitorização: Coluna Acquity ULPC HSS T3 (2.1 mm d.i. x 50 mm, 1.8µm).</p> <p>Volume injeção: 20 µL</p>	<p>(Gracia-Lor et al., 2012)</p>

Tabela 4 – Metodologias analíticas usadas na determinação de antidiabéticos em águas. (Cont.)

<p>Afluente e efluente de ETARs (n=11)</p>	<p>Recolha de amostra composta de 24 h de afluente e efluente. Amostras mantidas a 4 °C e extraídas em 48 h.</p>	<p>Filtração por filtro de microfibras de vidro GF/C Whatman de 1.2 µm.</p> <p>Extração em fase sólida com colunas Oasis HLB (200 mg, 6 mL):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Acondicionamento com 6 mL de metanol e 10 mL de água a pH 4.5. - Eluição com 5 mL de metanol. - Evaporação do eluído à secura a 40°C sob corrente de azoto. - Redissolução do resíduo em 1 mL de fase móvel constituída por mistura de ácido fórmico a 0.1% em água (A) e metanol (B) (25:75. v/v). - Adição de 50 ng de padrão interno. 	<p>LC- MS/MS</p> <p>Coluna Phenomenex Luna Phenyl-Hexyl (2 mm d.i. x 150 mm) com pré-coluna (3 mm d.i. x 4 mm).</p> <p>Fase móvel: mistura de ácido fórmico a 0.1% em água e metanol (25:75, v/v).</p> <p>Fluxo: 250 µL /min Volume injeção: 10 µL</p>	<p>(Lee et al., 2009)</p>
<p>Afluente e efluente de ETARs (n= 81)</p>	<p>Recolha: garrafas âmbar pré-lavadas. Refrigeração durante o transporte. Aquando da chegada ao laboratório, as amostras, foram filtradas e mantidas a temperatura inferior a 4 °C até análise.</p>	<p>Filtração por filtro de fibras de vidro.</p> <p>Extração em fase sólida com colunas Oasis HLB (200 mg, 6 mL):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Condicionamento com 5 mL de metanol e 5 mL de água. - Eluição com 10 mL de metanol. - Evaporação do eluído à secura sob corrente suave de azoto no evaporador TurboVap. - Resíduo redissolvido em 1 mL de metanol. 	<p>LC- MS/MS</p> <p>Pré-coluna: Agilent Zorbax SB MicroBore (1.0 mm d.i. x 17 mm, 5 µm).</p> <p>Coluna Agilent Zorbax Extend C18 Narrow Bore RR (2.1 mm d.i. x 100 mm, 3.5 µm).</p> <p>Fase móvel: água com 0,1% ácido fórmico (A) e acetonitrilo (B).</p> <p>Fluxo: 0.25 mL /min Volume injeção: 10 µL</p>	<p>(Kwon e Rodriguez, 2014)</p>

Tabela 4 – Metodologias analíticas usadas na determinação de antidiabéticos em águas. (Cont.)

<p>Afluente e efluente de ETARs (n=21)</p> <p>Água de rio (n= 22)</p> <p>Água de consumo (n=8)</p>	<p>Recolha: - Afluente e Efluente: amostra composta de 24 h. Amostras congeladas até análise.</p> <p>- Água rio: garrafas limpas de polipropileno a 30 cm de profundidade.</p> <p>- Água de consumo: Garrafas de água de consumo compradas em locais diferentes mantidas na embalagem original a 4°C até análise feita no prazo de 2 dias.</p>	<p>Filtração por filtro de fibra de vidro 0.50 µm GC-50 de 90 mm da Advantec.</p> <p>Extração em fase sólida com Polímero de Fase Reversa Strata-X 33U (200 mg, 6 mL):</p> <p>- Condicionamento com 6 mL de metanol e 6 mL de água destilada.</p> <p>- Eluição com 6 mL de metanol.</p> <p>- Evaporação do eluído à secura com evaporador de ar compressor Stuart.</p> <p>- Resíduo reconstituído com 1 mL de metanol – água (30:70, v/v).</p>	<p>LC- MS/MS</p> <p>Coluna SunFire C18 (2.1 mm d.i. x 50 mm, 3.5 µm).</p> <p>Fase móvel: metanol, fluoreto amónio 1mM e água.</p> <p>Fluxo: 0.20 mL /min Volume injeção: 10 µL</p>	<p>(Carmona et al.,2014)</p>
<p>Água de superfície</p>	<p>Recolha: Frascos de vidro âmbar pré-lavados. Amostras foram congeladas e enviadas para o laboratório e analisadas em 24 horas.</p>	<p>Extração em fase sólida (SPE) com colunas Oasis TM HLB (200 mg, 6 cc):</p> <p>- Acondicionamento com 6 mL de metanol e 5 mL de água desionizada de grau HPLC.</p> <p>- Eluição com 2 vezes com 4 mL de metanol.</p> <p>- Eluído evaporado até à secura.</p> <p>- Resíduo reconstituído com 1 mL de metanol-água (10:90, v/v), filtrado e diluído 1:1 com metanol-água (10:90, v/v) antes da análise.</p>	<p>LC- MS/MS</p> <p>Coluna ZORBAX SB C18 de fase reversa (3.0 mm d.i. x 250 mm, 5 µm).</p> <p>Fase móvel: acetonitrilo e água, grau HPLC, com 0,1% ácido fórmico.</p> <p>Fluxo: 0.20 mL /min Volume injeção: 20 µL</p>	<p>(Valcárcel et al.,2013)</p>

Tabela 4 – Metodologias analíticas usadas na determinação de antidiabéticos em águas. (Cont.)

<p>Água de rio (jusante de ETAR)</p>	<p>Recolha: frascos de vidro âmbar pré-lavados. Amostras foram congeladas e enviadas para o laboratório e analisadas em 24 horas.</p>	<p>Extração em fase sólida (SPE) com colunas Oasis TM HLB (200 mg, 6 cc):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Acondicionamento com 6 mL de metanol e 5 mL de água desionizada de grau-HPLC. - Eluição com 2 vezes com 4 mL de metanol. - Eluído evaporado até à secura. - Resíduo reconstituído com 1 mL de metanol-água (10:90, v/v), filtrado e diluído 1:1 com metanol-água (10:90, v/v). 	<p>LC- MS/MS</p> <p>Coluna ZORBAX SB C18 de fase reversa (3.0 mm d.i. x 250 mm, 5 µm).</p> <p>Fase móvel: acetonitrilo e água, grau HPLC, com 0,1% ácido fórmico.</p> <p>Fluxo: 0.30 mL /min Volume injeção: 20 µL</p>	<p>(Valcárcel et al.,2011)</p>
<p>Afluente e efluente de ETARs</p>	<p>Recolha: amostras triplas em frascos âmbar sem espaço de cabeça, para evitar perdas por volatilização. Análise no período de uma hora.</p>	<p>Filtração por filtros de fibra de vidro Whatman 934-AH.</p> <p>Extração em fase sólida (SPE) com colunas Oasis HLB 6cc.</p>	<p>LC- MS</p> <p>Coluna Restel Allure (biphenyl) (2.1 mm d.i. x 150 mm, 5 µm).</p> <p>Fluxo: 0.20 mL /min Volume injeção: 10 µL</p>	<p>(Ottmar et al., 2012)</p>

5. Conclusão

Como se pode observar pela análise da tabela 3 os compostos em análise estão presentes em vários tipos de águas.

Atualmente existem poucos estudos relacionados com o efeito destes compostos em organismos aquáticos. Estudos ecotoxicológicos são necessários, particularmente em estados biológicos críticos, em organismo ecologicamente relevantes. Seria então importante a avaliação conjunta com o ciclo de vida dos compostos, avaliação que irá fornecer informação importante para que as autoridades de saúde consigam encontrar soluções para melhor conter estas contaminações, no caso de se tornarem problemáticas (Valcárcel *et al.*, 2011).

Da pouca investigação que existe sobre este assunto surgiram já algumas medidas preventivas:

- Campanha massiva de recolha de medicamentos que as populações deixaram de tomar ou que já se encontram fora do prazo de validade;

- Educação das populações para o uso racional de medicamentos, recorrendo, por exemplo, a meios de comunicação e sensibilização junto da população mais jovem em escolas;

- Monitorização mais rigorosa de contaminantes provenientes de hospitais e da indústria farmacêutica;

- Avaliação cuidadosa da eficácia de remoção dos contaminantes em estações de tratamento de águas residuais.

A serem adotadas, estas medidas conseguem abrandar o aumento das concentrações dos contaminantes em águas (Deo, 2014).

Como os compostos farmacêuticos são desenvolvidos e desenhados para terem um determinado efeito biológico, esta exposição traz preocupações diferentes de outros contaminantes. É aceite que as consequências poderão ser mais graves do que com outras substâncias e que com algum esforço adicional, no futuro, poderão ser desenvolvidas moléculas com a mesma atividade biológica mas menos prejudiciais para o ambiente (Taylor e Senac, 2014).

Bibliografia

CARMONA, E.; ANDREU, V.; PICÓ, Y. - Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: from waste to drinking water. **The Science of the Total Environment**. 484 (2014) 53–63. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.02.085.

CUNNINGHAM, V. L.; BINKS, S. P.; OLSON, M. J. - Human health risk assessment from the presence of human pharmaceuticals in the aquatic environment. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. 53:1 (2009) 39–45. doi: 10.1016/j.yrtph.2008.10.006.

DEO, R. P. - Pharmaceuticals in the Surface Water of the USA: A Review. **Current Environmental Health Reports**. 1:2 (2014) 113–122. doi: 10.1007/s40572-014-0015-y.

GRACIA-LOR, E.; SANCHO, J.; SERRANO, R.; HERNÁNDEZ, F. - Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia. **Chemosphere**. 87:5 (2012) 453–62. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.12.025.

KWON, J.-W.; RODRIGUEZ, J. M. - Occurrence and removal of selected pharmaceuticals and personal care products in three wastewater-treatment plants. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. 66:4 (2014) 538–48. doi: 10.1007/s00244-013-9979-0.

LEE, H.-B.; PEART, THOMAS E.; LEWINA SVODOBA, M.; BACKUS, SEAN - Occurrence and fate of rosuvastatin, rosuvastatin lactone, and atorvastatin in Canadian sewage and surface water samples. **Chemosphere**. 77:10 (2009) 1285–91. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.09.068.

METABOLISM, L.; STAELS, B.; DALLONGEVILLE, J.; AUWERX, J.; SCHOONJANS, K.; LEITERSDORF, E.; FRUCHART, J-C - Mechanism of Action of Fibrates on Lipid and. **Circulation**. 98 (1998) 2088–2093.

OTTMAR, K. J.; COLOSI, L. M.; SMITH, J. A - Fate and transport of atorvastatin and simvastatin drugs during conventional wastewater treatment. **Chemosphere**. 88:10 (2012) 1184–9. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.03.066.

PEREIRA, A. M. P. T.; SILVA, L. J.G.; MEISEL, L. M.; LINO, C. M.; PENA, A. - Environmental impact of pharmaceuticals from Portuguese wastewaters: geographical and seasonal

occurrence, removal and risk assessment. **Environmental Research**. 136 (2015) 108–119. doi: 10.1016/j.envres.2014.09.041.

STANCU, C.; SIMA, A. - Statins: mechanism of action and effects. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. 5:4 (2001) 378–387. doi: 10.1111/j.1582-4934.2001.tb00172.x.

TAYLOR, D.; SENAC, T. - Human pharmaceutical products in the environment - the “problem” in perspective. **Chemosphere**. 115 (2014) 95–9. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.01.011.

TOURAUD, E.; ROIG, B.; SUMPTER, JOHN P.; COETSIER, C. - Drug residues and endocrine disruptors in drinking water: risk for humans? **International Journal of Hygiene and Environmental Health**. 214:6 (2011) 437–41. doi: 10.1016/j.ijheh.2011.06.003.

VALCÁRCEL, Y.; GONZÁLEZ ALONSO, S.; RODRÍGUEZ-GIL, J.L.; ROMO MAROTO, R.; GIL, A.; CATALÁ, M. - Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antipyretic pharmaceuticals in river- and drinking-water of the Madrid Region in Spain. **Chemosphere**. 82:7 (2011) 1062–71. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.10.041.

VALCÁRCEL, Y. ; GONZÁLEZ ALONSO, S.; RODRÍGUEZ-GIL, J.L.; CASTAÑO, A.; MONTERO, J. C.; CRIADO-ALVARÉZ, J. J.; MIRÓN, I. J.; CATALÁ, M. - Seasonal variation of pharmaceutically active compounds in surface (Tagus River) and tap water (Central Spain). **Environmental Science and Pollution Research International**. 20:3 (2013) 1396–412. doi: 10.1007/s11356-012-1099-2.

Estatística do medicamento 2013, descarregado de, http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MONITORIZACAO_DO_MERCADO/OBSERVATORIO/ESTATISTICA_DO_MEDICAMENTO/Estat_Medic_2013.pdf , a 8 de junho de 15

Acedido a 9 de junho de 2015:

<http://www.drugbank.ca/drugs/DB01076>

<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00641>

<http://www.drugbank.ca/drugs/DB01393>

<http://www.drugbank.ca/drugs/DB01241>