

**FÁRMACOS QUIRAIS EM DIFERENTES MATRIZES AMBIENTAIS: OCORRÊNCIA, REMOÇÃO E TOXICIDADE****Ana R. Ribeiro<sup>a, #</sup>, Carlos Afonso<sup>b, c</sup>, Paula M. L. Castro<sup>d</sup> e Maria E. Tiritan<sup>a, b, c, \*</sup>**<sup>a</sup>CESPU, Instituto de Investigação e Formação Avançada em Ciências e Tecnologias da Saúde, Rua Central de Gandra, 1317, 4585-116 Gandra PRD, Portugal<sup>b</sup>Laboratório de Química Orgânica e Farmacêutica, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal<sup>c</sup>Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Rua dos Bragas 289, 4050-123 Porto, Portugal<sup>d</sup>Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Arquiteto Lobão Vital, Apartado 2511, 4202-401 Porto, Portugal

Recebido em 08/11/2015; aceito em 21/01/2016; publicado na web em 12/04/2016

**CHIRAL PHARMACEUTICALS IN DIVERSE ENVIRONMENTAL MATRICES: OCCURRENCE, REMOVAL AND TOXICITY.**

In recent decades, the occurrence of pharmaceuticals in the environment has been widely reported due to their high frequency and recalcitrance in many cases. Concerning the chiral pharmaceuticals (CPs) in environmental matrices, the stereochemistry is often neglected and enantiomers are determined together as unique molecules. However, it is well known that CPs might have enantioselective toxicity, rendering important to assess the occurrence and degradation processes of single enantiomers in the environment, namely during biological treatment in wastewater treatment plants (WWTPs). The development of analytical methods to qualitatively and quantitatively evaluate the enantiomers of CPs is crucial for determining enantiomeric fraction (EF). The EF is the most important parameter in studies involving enantiomers and enantioselective processes and fundamental in biodegradation studies and wastewater monitoring. This review summarizes the analytical methods used to determine EF of CPs in environmental matrices and/or during biodegradation processes. The occurrence of CPs in the environment and their biodegradation are reviewed and future trends in the area outlined.

Keywords: chiral pharmaceuticals; enantioselectivity; environment.

**FÁRMACOS NO AMBIENTE**

Os recursos limitados de água obrigam à necessidade de proteção da integridade dos recursos hídricos. Em 2008 foi criada uma Diretiva Europeia<sup>1</sup> que tem como objetivo a proteção e recuperação dos recursos hídricos, estabelecendo uma lista de substâncias prioritárias. Também a Convenção de Estocolmo, em 2001, estabeleceu doze poluentes orgânicos persistentes, como prioritários para redução ou eliminação da sua produção, utilização e/ou descarga.<sup>2</sup> Outros compostos emergentes têm sido reconhecidos como potencialmente prejudiciais para ambientes aquáticos, incluindo subprodutos de desinfecção, aditivos de gasolina, aditivos industriais, retardadores de chama, tensoativos, antissépticos, drogas de abuso, produtos de higiene pessoal e fármacos.<sup>3,4</sup> Embora a maioria deles sejam considerados pseudopersistentes e não se encontrem regulamentados, a ocorrência de efeitos potencialmente nocivos associados a estes compostos torna-os candidatos a futura regulamentação.<sup>4</sup> Os fármacos são classificados como compostos pseudopersistentes, tendo vindo a ser detectados em ambientes aquáticos desde a década de 90, em concentrações que variam de ng L<sup>-1</sup> a µg L<sup>-1</sup>, causando uma grande preocupação relacionada com os potenciais efeitos que podem originar nos organismos aquáticos e na saúde humana pelo consumo de água potável e alimentos.<sup>5-8</sup> Recentemente, a Diretiva Europeia 2013/39/EU<sup>9</sup> propôs a revisão da lista de substâncias prioritárias, tendo sugerido a inclusão de um anti-inflamatório (diclofenaco) e

dois hormônios sexuais (17α-etinilestradiol e 17β-estradiol) na lista de vigilância no domínio da política da água. Recentemente, esta lista de vigilância foi revista, tendo sido incluídos mais três antibióticos, entre outros.<sup>10</sup> No Brasil não há relato de inclusão de fármacos na legislação específica de controlo e de vigilância da qualidade da água.<sup>11</sup>

A interligação dos principais compartimentos ambientais, como águas superficiais, águas subterrâneas e solos, pode resultar na contaminação da água potável por fármacos.<sup>12</sup> Os fármacos podem atingir o meio ambiente por três vias principais: eliminação de medicamentos pela indústria, hospitais e outros serviços de saúde; eliminação de medicamentos não utilizados por meio das estações de tratamento de esgotos (ETE) ou aterros; e pela excreção após o uso humano e/ou veterinário,<sup>7</sup> como pode ser observado na Figura 1.

Em países desenvolvidos, a indústria farmacêutica não representa a principal fonte de contaminação ambiental por estas substâncias mas em alguns países asiáticos há registos de níveis elevados de fármacos em efluentes industriais, onde não existem normas restritivas para o descarte destes compostos no ambiente.<sup>13</sup> Um estudo sobre a contaminação de fármacos pela indústria farmacêutica no Brasil revelou que os tratamentos utilizados em duas indústrias farmacêuticas não eram eficientes resíduos de antibióticos e seus produtos de degradação foram detectados nos efluentes destas indústrias.<sup>14</sup> O descarte inadequado de medicamentos não utilizados ou fora do prazo de validade também representa uma via importante de entrada de fármacos no ambiente.<sup>15</sup> Nestes casos, os fármacos são eliminados principalmente como moléculas não modificadas, uma vez que apenas sofrem as ações fracamente delatórias da luz e humidade, não tendo sido submetidos a qualquer processo metabólico no organismo (Figura 1). Quanto aos medicamentos usados em aquacultura, produção animal e no tratamento de animais de estimação (Figura 1), estes e/ou seus

\*e-mail: elizabeth.tiritan@iscsn.cespu.pt

<sup>#</sup>Filiação atual: Laboratório de Processos de Separação e Reação - Laboratório de Catálise e Materiais (LSRE-LCM), Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465 Porto, Portugal

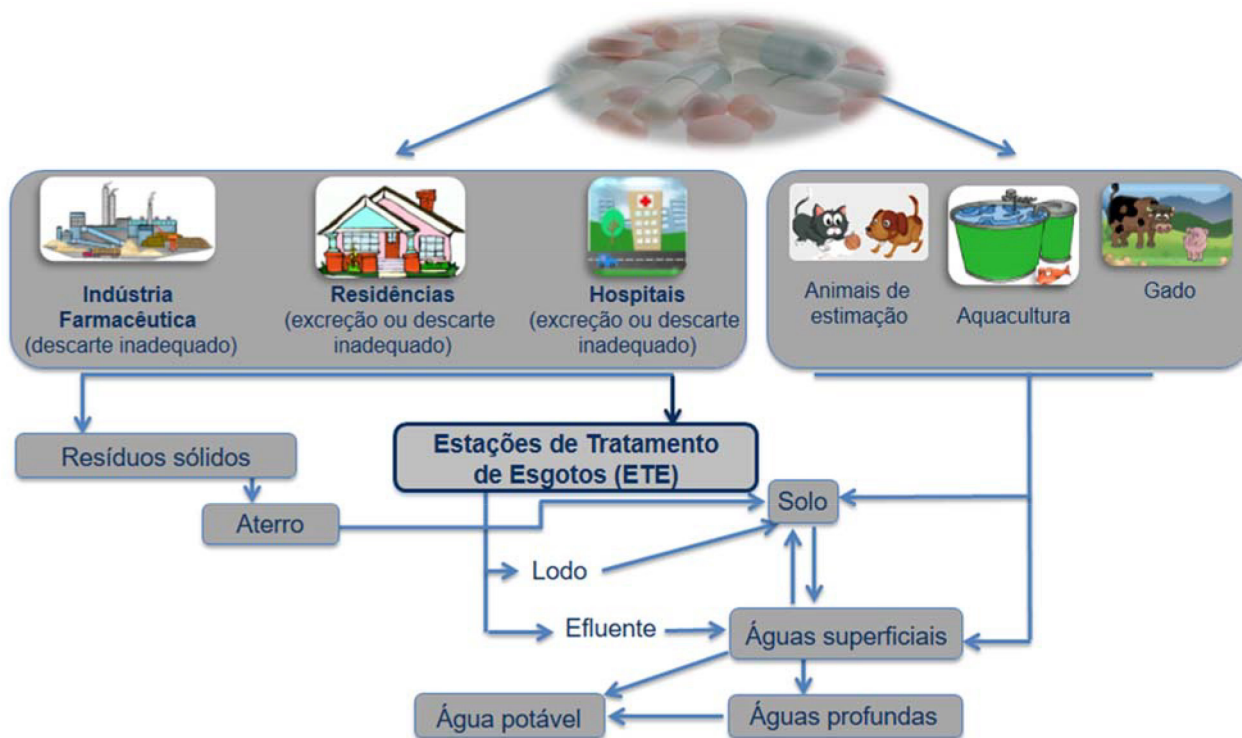


Figura 1. Principais origens e destinos dos fármacos de uso humano e/ou veterinário no ambiente

metabolitos são disseminados diretamente para a água, ou pelo escoamento ou lixiviação das excreções para o solo, ou indiretamente, pelo estrume usado em solos agrícolas.<sup>6,16</sup>

No entanto, a principal fonte de fármacos no ambiente é o consumo humano.<sup>12</sup> A grande maioria dos medicamentos de uso humano e seus metabolitos<sup>16,17</sup> são excretados e recolhidos para tratamento nas ETE municipais, por meio dos esgotos domésticos. Os efluentes hospitalares também têm uma grande contribuição para a presença de fármacos no meio ambiente (Figura 1), uma vez que estes efluentes são habitualmente descarregados em ETE municipais.<sup>18,19</sup> As ETE são planejadas para remover uma grande parte da matéria poluente da água, contudo, não estão projetadas para remover completamente moléculas pequenas em baixas concentrações, como é o caso de fármacos e seus metabolitos.<sup>20</sup> Além da fotodegradação e hidrólise, os fármacos nas ETE passam também por processos de adsorção e sofrem biodegradação, sendo esta última considerada como o processo de eliminação mais importante no tratamento de águas residuais.<sup>21</sup> A implementação de tecnologias de tratamento avançado nas ETE poderá permitir o aumento da eficiência da degradação de fármacos ou mesmo da sua total mineralização.<sup>22,23</sup>

## FÁRMACOS QUIRAIS

Apesar das suas propriedades termodinâmicas semelhantes, os enantiômeros têm normalmente um comportamento diferente na presença de outras entidades quirais. Aminoácidos, hidratos de carbono, desoxirribose e ribose são quirais e entidades fundamentais na formação das proteínas, glicoproteínas, ácido desoxirribonucleico (ADN) e ácido ribonucleico (ARN), respectivamente.<sup>24,25</sup> Como tal, as enzimas, os receptores e outras moléculas ligantes têm capacidade de distinguir enantiômeros. O modelo que demonstra o reconhecimento de um enantiômero por um receptor, devido à sua configuração complementar, encontra-se ilustrado na Figura 2, demonstrando que o outro enantiômero não se liga ao mesmo receptor, podendo apresentar uma resposta biológica diferente. Esse enantiômero poderá ser um

ligante para outro(s) receptor(es), originando uma outra atividade, efeitos secundários, ou mesmo efeitos tóxicos.<sup>26,27</sup>

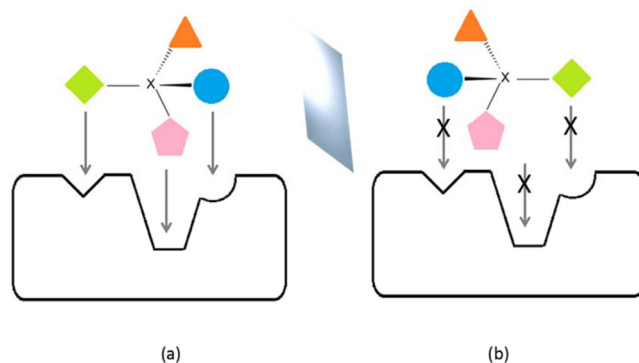


Figura 2. Reconhecimento complementar de um enantiômero (a) e não reconhecimento (b)

Os fármacos quirais (FQ) têm despertado preocupação ambiental, pois podem estar presentes em diferentes formas no ambiente. A fração enantiomérica (FE) é a proporção da concentração de um enantiômero em relação à concentração total, o que exprime a concentração relativa de um enantiômero. Uma mistura racémica ou racemato tem uma FE de 0,5, enquanto um composto enantiomericamente puro tem uma FE de 0 ou 1. Os FQ podem ser administrados na forma de racematos ou em formas enantiomericamente puras, tendo sido detectados no meio ambiente com diferentes valores de FE independentemente da forma como são administrados.<sup>28</sup>

Os enantiômeros de FQ têm diferenças na farmacocinética, farmacodinâmica, toxicologia e ecotoxicologia, podendo afetar de forma diferente os organismos aquáticos.<sup>29,30</sup> Os FQ com diferentes propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas têm diferentes constantes de dissociação do local de ligação. Isso leva à resposta biológica diferente,<sup>31-33</sup> como por exemplo: ação farmacológica única de um dos

enantiômeros (e.g., (*S*)-ibuprofeno ((*S*)-IBU), anti-inflamatório); ação farmacológica superior de um dos enantiômeros (e.g., (*S*)-propranolol (*S*)-PHO, beta-bloqueador); menos efeitos secundários ou toxicidade de um dos enantiômeros (e.g., (*S*)-bupivacaína, anestésico); antagonismo dos efeitos secundários de um enantiômero, pelo outro (e.g., indacrina); ação farmacológica diferente entre enantiômeros (e.g., fluoxetina (FLX), em que (*R*)-FLX é antidepressivo e (*S*)-FLX foi testada para tratamento de enxaquecas); um enantiômero com ação farmacológica e o outro tóxico (e.g., (*S*)-cetamina tem ação farmacológica como anestésico e (*R*)-cetamina é responsável por alucinações e agitação).<sup>31-37</sup> As vantagens de formulações enantiomericamente puras são menor dose terapêutica, maior margem de segurança, menor variabilidade inter-individual, menos interações medicamentosas e efeitos secundários. Ultimamente, temos assistido à avaliação de licenças para colocar no mercado fármacos enantiomericamente puros, administrados anteriormente como racematos (um processo chamado de *chiral switching*), assim como ao investimento em técnicas inovadoras de obtenção e controle de enantiômeros no desenvolvimento de novos fármacos.<sup>38-40</sup> Desde 2000, a preferência da indústria farmacêutica é para aprovar moléculas quirais na sua forma enantiomérica pura (Figura 3).<sup>41</sup> Em 2012, dos cinco medicamentos mais vendidos nos EUA, destacam-se quatro medicamentos de marca cujos fármacos são enantiômeros puros:<sup>42</sup> Nexium® (esomeprazol), Crestor® (rosuvastatina), Advair Diskus® (propionato de fluticasona + salmeterol) e Cymbalta® (cloridrato de duloxetine). Outros fármacos enantiomericamente puros, tais como Singulair® (montelukaste), Plavix® (cloridrato de clopidogrel) e Januvia® (fosfato de sitagliptina) estão incluídos nos vinte medicamentos mais vendidos em 2012.<sup>42</sup> Apesar da tendência em desenvolver formas enantiomericamente puras, existem vários medicamentos que são comercializados tanto como mistura racêmica como na forma enantiomericamente pura, tal como os antidepressivos citalopram e (*S*)-citalopram (escitalopram), o anti-inflamatório cetoprofeno e (*S*)-cetoprofeno (dexcetoprofeno), os inibidores da bomba de prótons omeprazol e (*S*)-omeprazol (esomeprazol), os antibióticos ofloxacina e (*S*)-ofloxacina.<sup>39,43,44</sup>

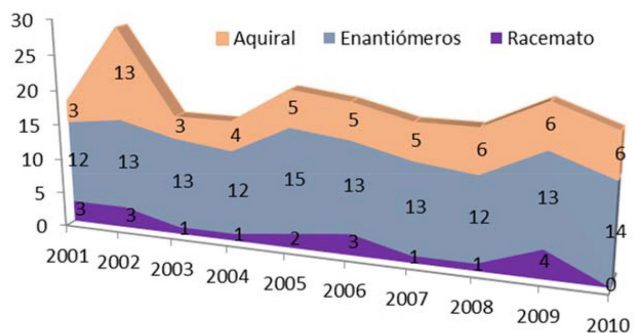


Figura 3. Distribuição anual dos fármacos aprovados no período 2001–2010, adaptado da ref. 41 (\*Incluindo misturas diastereoisoméricas)

O uso de FQ com uma FE diferente de 1 consiste numa opção terapêutica, que permite otimizar os benefícios terapêuticos de um enantiômero, face ao outro. Como exemplo, uma mistura de S<sub>0,75</sub>/R<sub>0,25</sub> bupivacaína pode ser administrada em vez do racemato, com as mesmas propriedades anestésicas e com menor toxicidade.<sup>45</sup>

Apesar do papel bem estabelecido da enantiosseletividade em farmacocinética, farmacodinâmica e toxicologia em processos biológicos e em análises biomédicas,<sup>46</sup> a estereoquímica é muitas vezes negligenciada em pesquisas ambientais.<sup>29,47</sup> Na biodegradação, ecotoxicidade e destino ambiental, o reconhecimento de enantiosseletividade é essencial para fornecer uma avaliação de risco mais realista de compostos quirais.<sup>48-54</sup> Num artigo de revisão, Stanley e Brooks

(2009)<sup>55</sup> descreveram estudos ecotoxicológicos, demonstrando enantiosseletividade na taxa de sobrevivência e em efeitos sub-letais de indicadores ecologicamente relevantes, tais como o crescimento e reprodução. Os efeitos toxicológicos de FQ em organismos aquáticos foram recentemente revistos por Petrie *et al.*,<sup>56</sup> constatando-se que a maioria desses estudos é realizada somente com misturas racêmicas. Um estudo recente realizado por Connors *et al.*<sup>57</sup> demonstrou que, em modelos animais, o metabolismo enantiosseletivo dos FQ não pode ser diretamente extrapolado a partir dos dados disponíveis para o organismo humano. Estes investigadores sublinham a importância de procurar uma relação entre padrões de metabolismo enantiosseletivo *in vitro* e o potencial de bioacumulação enantiosseletivo *in vivo*, assim como de desenvolver ferramentas adicionais para uma melhor extrapolação de dados entre espécies, no que se refere a estudos biomédicos e ambientais.

## QUIRALIDADE NO AMBIENTE

Relativamente à quantificação de fármacos no ambiente, existe um vasto número de publicações,<sup>19,58-61</sup> mas os enantiômeros são frequentemente ignorados e tratados como uma única entidade molecular.<sup>29,47</sup> É esperado que a metabolização e a biodegradação em meios bióticos, como ocorre no tratamento secundário de ETE, seja enantiosseletiva devido à intervenção de moléculas quirais na biodegradação.<sup>62-64</sup> Assim, é crucial dispor de métodos analíticos enantiosseletivos para avaliar a ocorrência ambiental de FQ, para avaliar corretamente o risco ecológico, mas também para orientação regulamentar no futuro.<sup>46,47</sup>

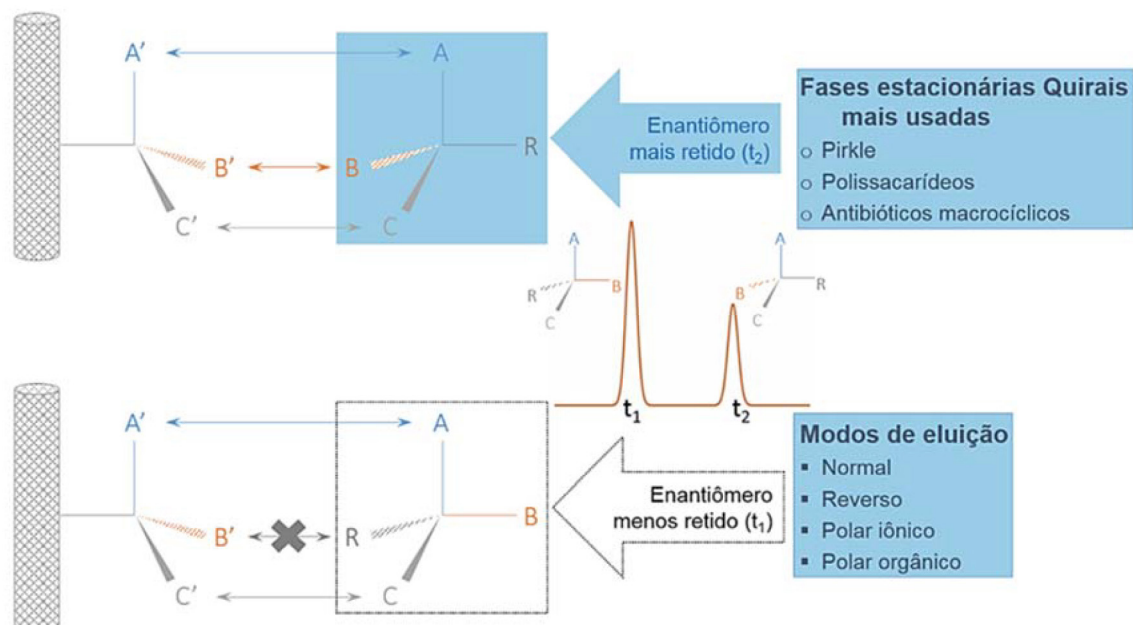
Apenas algumas classes terapêuticas de FQ foram estudadas e determinadas enantiosseletivamente em matrizes ambientais.<sup>65</sup> Recentemente, alguns autores têm usado a determinação da FE como uma importante ferramenta na biodegradação, nos estudos toxicológicos e na monitorização dos processos biológicos que ocorrem no tratamento de águas residuais,<sup>66,67</sup> recorrendo a métodos analíticos enantiosseletivos para quantificar fármacos, como por exemplo: varfarina,<sup>48</sup> antidepressivos venlafaxina (VNF)<sup>68,69</sup> e FLX e seu metabolito norfluoxetina (NFLX)<sup>52,53</sup> e beta-bloqueadores (alprenolol (ALP), PHO, atenolol (ATE) e metoprolol (MET)),<sup>50,51</sup> assim como várias classes de fármacos em simultâneo.<sup>54</sup>

## Métodos Analíticos

### Seletores quirais para cromatografia

As primeiras análises ambientais enantiosseletivas utilizaram na sua maioria Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (GC-MS/MS).<sup>62,66,70</sup> Após 2006, a Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa (LC-MS/MS) começou a destacar-se, passando a ser a técnica de eleição nos trabalhos da área ambiental.<sup>28,54,63,64,68,69,71-89</sup> Apesar de não serem tão usados, os detetores UV e de fluorescência têm sido descritos em alguns trabalhos,<sup>48,82,90,91</sup> como por exemplo em estudos de biodegradação enantiosseletiva desenvolvidos em laboratório, porque as amostras tendem a ser mais limpas e mais concentradas do que as amostras reais de solos, efluentes e águas superficiais.<sup>50,51</sup>

Os métodos analíticos modernos para determinação da FE baseiam-se na formação de complexos diastereoisoméricos transitórios com os dois enantiômeros, que podem ser separados por cromatografia, devido às suas diferentes propriedades termodinâmicas.<sup>92</sup> Estes métodos podem utilizar um seletor quiral, como aditivo na fase móvel ou na fase estacionária (fase estacionária quiral, FEQ). Em ambos os casos, o seletor quiral tem mais afinidade para um dos enantiômeros. O primeiro método é mais complexo e pouco utilizado, porque requer maiores quantidades de seletor quiral para preparar a fase móvel, que



**Figura 4.** Representação da separação quiral, segundo a diferente afinidade entre os dois enantiômeros e o seletor quiral da FEQ

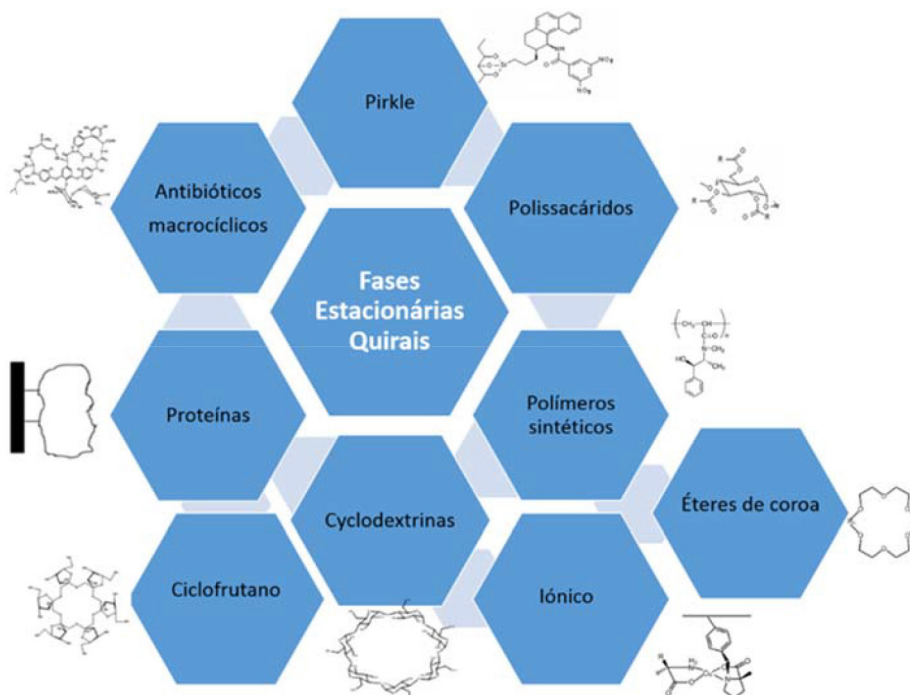
não é reutilizado, além de poder interferir com o modo de detecção.<sup>93</sup> A Cromatografia Líquida com FEQ (Figura 4) tem tido uma elevada reputação na separação enantiosseletiva, tanto no modo analítico como preparativo.<sup>93-95</sup>

Há muitos tipos de colunas quirais comerciais, recentemente revistas na literatura.<sup>93,96-99</sup> Na Figura 5 estão descritos os seletores quirais mais importantes.<sup>93,100,101</sup> A escolha da FEQ baseia-se na literatura disponível e nas características gerais do seletor e do analito. Atualmente, FEQ derivadas de polissacarídeos, de antibióticos macrocíclicos e do tipo Pirkle (moléculas pequenas) são apontadas como as mais úteis e amplamente usadas (Figura 5). Muitos autores iniciam o desafio de tentativa-erro com FEQ derivadas de polissacarídeos, de antibióticos macrocíclicos ou tipo Pirkle (Whelk-O1), porque são

versáteis e adequadas a todos os modos de eluição.<sup>100,102-110</sup> A tendência de separação no modo normal mudou ao longo da última década para modo reverso, polar orgânico e polar iônico,<sup>105,106,108-110</sup> com a vantagem de ser compatível com LC-MS/MS. A separação no modo HILIC (do inglês, *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography*) pode ser utilizada em FEQ derivadas de polissacarídeos, que são indicadas para modo reverso e HILIC ao mesmo tempo, dependendo do analito e das condições de separação.<sup>94</sup>

#### Análises quirais em estudos de biodegradação em laboratório

A importância de métodos para seguir a degradação de compostos quirais no ambiente, como pesticidas, drogas ilícitas e fármacos



**Figura 5.** Tipos de seletores quirais

é um tópico de interesse atual,<sup>111</sup> sendo importante ter em conta a variação da FE na sua biodegradação e/ou remoção nas ETE, uma vez que os microrganismos podem degradar ambos os enantiômeros de forma não enantiosseletiva ou podem degradar seletivamente um enantiômero, além de poderem efetuar modificações que levam à formação de metabolitos/produtos de transformação quirais a partir de substratos aquirais. A degradação microbiana também pode promover racemização ou enantiomerização.<sup>112,113</sup>

Relativamente a estudos de biodegradação, no que se refere a enantiosseletividade, há poucos trabalhos publicados, alguns incluem algumas classes de fármacos, tais como beta-bloqueadores, antidepressivos e seus metabolitos, varfarina, anti-inflamatórios não esteroides (AINE) e drogas ilícitas. Buser *et al.*<sup>62</sup> foram os pioneiros em estudos de biodegradação enantiosseletiva, com o seu trabalho com o IBU. Durante a incubação utilizando afluente de uma ETE misturado com lamas ativadas, a FE do IBU variou, com uma dissipação rápida e quase completa, sugerindo a degradação biológica. A degradação mais rápida de (*S*)-IBU está de acordo com o que foi observado ao longo do processo na ETE. A incubação de água do lago fortificada com IBU originou uma dissipação mais rápida do (*S*)-enantiômero, que foi superior sob a exposição da luz. Isto resultou em resíduos com a composição enantiomérica oposta à do metabolismo humano.<sup>62</sup> No entanto, Winkler *et al.*<sup>70</sup> estudaram o mesmo fármaco, em 240 horas de exposição nos reatores de biofilmes, sendo (*R*)-IBU degradado mais rapidamente do que (*S*)-IBU, a forma ativa. Assim, o isómero não ativo foi degradado mais rapidamente nos reatores, o que sugere que o principal contaminante do ambiente resultante do uso de IBU pode ser o farmacologicamente ativo.<sup>70</sup> Outro estudo realizado por Matamoros *et al.*<sup>71</sup> demonstrou degradação não-enantiosseletiva do IBU e do naproxeno em condições predominantemente anaeróbias, com eficiência de remoção entre 52% e 80%. Estes resultados divergentes demonstram a diferença na enantiosseletividade que pode ser relacionada com a variabilidade da biomassa entre diferentes estudos.

Num estudo realizado por Fono and Sedlak,<sup>66</sup> simulando uma ETE municipal de lamas ativadas, ocorreu uma diminuição da FE do PHO de 0,5 para valores inferiores. Como esperado, a FE permaneceu constante em tratamentos não inoculados ou esterilizados. Ensaio laboratoriais realizados por Li *et al.*<sup>69</sup> demonstraram que o antidepressivo VNF foi enantiosseletivamente biotransformado, com a (*R*)-VNF preferencialmente degradada por *O*-desmetilação em *O*-desmetil-VNF. A *N*-desmetilação não foi observada. Gasser *et al.*<sup>68</sup> estudaram a degradação de VNF e seus metabolitos utilizando efluente de ETE inoculado com lamas ativadas. Em condições anaeróbias, a suplementação de VNF e *O*-desmetil-VNF com uma razão de concentrações de 30:1 µg L<sup>-1</sup> conduziu a uma conversão quase total de *O*-desmetil-VNF, mas vestígios de *N*-desmetil-VNF e *O,N*-didesmetil-VNF também foram identificados. A VNF permaneceu

racémica e *O*-desmetil-VNF originou uma mistura racémica.

A degradação da varfarina foi testada em solos, sendo observada uma rápida degradação nos solos não-estéreis depois de um curto período de degradação lenta, o que sugere biodegradação limitada, apesar do (*R*)-enantiômero ser preferencialmente degradado.<sup>48</sup> Recentemente, a biodegradação por lamas ativadas do ALP, ATE, MET, PHO e FLX foram estudadas,<sup>50,51</sup> com uma biodegradação tendencialmente superior para os enantiômeros (*S*)- do ALP, PHO e MET. Pelo contrário, a degradação do ATE e FLX foi não-enantiosseletiva. Num outro estudo,<sup>53</sup> a degradação dos enantiômeros da FLX em efluentes de águas residuais foi quase total após 21 dias, não se tendo verificado mais remoção, nem degradação enantiosseletiva durante o processo de degradação. Também a biodegradação da FLX racémica e dos seus enantiômeros separados pela estirpe bacteriana *Labrys portucalensis* F11 foi estudada,<sup>52</sup> tendo-se observado a degradação completa dos dois enantiômeros separados, com degradação preferencial da (*R*)-FLX em 24 dias e degradação da (*S*)-FLX em 32 dias, sem formação observada do metabolito NFLX nem ocorrência de enantiomerização. A biodegradação na suplementação racémica foi mais rápida para a (*R*)-FLX (21 dias) e a (*S*)-FLX foi persistente até ao fim do ensaio (7% no dia 46). Estes resultados reforçam que a enantiosseletividade na biodegradação depende da composição microbiana.

#### Análises quirais em ambiente real

No que diz respeito à quantificação enantiomérica em matrizes reais do ambiente (por exemplo: efluentes de ETE ou águas superficiais), apenas algumas classes terapêuticas de fármacos, tais como beta-bloqueadores, beta<sub>2</sub>-adrenérgicos, antidepressivos e seus metabolitos, antifúngicos, AINE e também algumas drogas ilícitas foram estudadas (Tabela 1).<sup>28,48,62-64,66,68-86,90,91,114</sup>

Buser *et al.*<sup>62</sup> foram também os pioneiros em análises ambientais enantiosseletivas, com o seu trabalho com o IBU, e seus principais metabolitos, que foram detectados nos afluentes de 3 ETE da Suíça, com predominância do (*S*)-IBU e variação da FE entre afluentes e efluentes. A degradação enantiosseletiva do IBU e naproxeno foi avaliada em cinco ETE em Espanha e na Dinamarca com diferentes tipos de tratamentos, por Matamoros *et al.*<sup>71</sup> Neste trabalho, a degradação enantiosseletiva do IBU dependeu das condições aeróbicas das ETE, sendo o (*S*)-IBU degradado mais rapidamente do que o (*R*)-IBU, o que demonstrou que a FE do IBU não pode ser considerada um bom indicador da eficiência das ETE, em que prevaleçam condições anaeróbias. Os três AINE IBU, naproxeno e cetoprofeno foram estudados por Hashim and Khan,<sup>73</sup> que encontraram concentrações na gama de ng L<sup>-1</sup> em efluentes de ETE em Sidney, na Austrália, com uma média da FE do IBU, naproxeno e cetoprofeno entre 0,49-0,62,

**Tabela 1.** Análises quirais no ambiente

Fármaco(s)	Matriz	Observações	Referências
IBU	Águas residuais (Suíça)	O ( <i>S</i> )-IBU foi detectado em maior concentração, havendo também variação da FE entre afluentes e efluentes.	[62]
IBU e naproxeno	Águas residuais (Espanha, Dinamarca)	O ( <i>S</i> )-IBU foi degradado mais rapidamente do que o ( <i>R</i> )-IBU.	[71]
IBU, naproxeno e cetoprofeno	Águas residuais (Austrália)	Verificou-se variabilidade na FE do IBU, naproxeno e cetoprofeno, em amostras de diferentes dias.	[73]
IBU, naproxeno e cetoprofeno	Águas residuais (Austrália)	A FE do IBU variou significativamente durante o tratamento na ETE.	[74]
Naproxeno	Águas residuais e superficiais (Japão)	O ( <i>R</i> )-naproxeno não foi detectado nos afluentes, apesar de estar presente nos efluentes, com uma FE entre 0,88 e 0,91.	[115]
PHO	Águas residuais (EUA)	A FE do PHO diminuiu entre o afluente e o efluente.	[66]
MET	Águas superficiais (Alemanha)	A FE variou espacial e temporalmente.	[76]

**Tabela 1.** Análises quirais no ambiente (cont.)

Fármaco(s)	Matriz	Observações	Referências
PHO	Águas superficiais (Segóvia, Espanha)	As concentrações detectadas foram 1.35 µg L <sup>-1</sup> de (R)-PHO e 1.22 µg L <sup>-1</sup> de (S)-PHO.	[90]
ATE, MET, PHO	Águas residuais urbanas e rurais (Canadá)	Todos os fármacos tinham uma FE de 0,5 no afluente urbano, sendo não racémicos em agosto (ATE, PHO) e em novembro (PHO). MET e ATE encontraram-se na forma não racémica no afluente da ETE rural, sendo a FE do MET racémica no efluente.	[85]
MET e seus metabolitos	Águas residuais (Suécia)	No efluente, o MET foi detectado na forma racémica (0,51-0,55).	[64]
ATE	Águas residuais (Espanha)	O (S)-ATE foi encontrado com maior predominância nos afluentes. Dependendo do tipo de tratamento usado nas ETE, a FE variou.	[116]
VNF	Águas superficiais (França)	A VNF foi detectada à saída da principal ETE como racémica, tendo variado a FE ao longo do rio.	[69]
VNF e metabolito O-desmetil-VNF	Águas residuais (Israel)	A FE da VNF variou após tratamento primário e secundário. A FE do metabolito variou para a maioria das ETE durante o tratamento secundário.	[68]
FLX e metabolito NFLX	Águas residuais (Suécia)	A concentração de (S)-FLX foi superior à concentração de (R)-FLX em ambos os afluente e efluente tratado (FE entre 0,68 e 0,71).	[63]
Omeprazol	Águas superficiais: rio Monjolinho (Brasil) e rio Douro (Portugal)	Ambos os enantiômeros foram detetados no afluente de uma ETE e não detectados tanto no efluente como nas amostras do rio Monjolinho (Brasil). Ambos os enantiômeros foram detectados numa amostra do estuário do rio Douro, em Portugal.	[82]
Lansoprazol e pantoprazol	Águas superficiais: rio Monjolinho (Brasil)	Nenhum dos enantiômeros foi encontrado nas amostras de águas recolhidas diretamente da descarga ao longo do rio estudado.	[80]
Econazol, cetoconazol, miconazol, tebuconazol e propiconazol	Águas residuais	O miconazol foi o único antifúngico estudado com variação da FE entre o afluente e o efluente.	[75]
Econazol, cetoconazol, miconazol e tebuconazol	Águas residuais e superficiais	A FE nos afluentes foi aproximadamente 0,5 e não variou após tratamento na ETE, para todos os compostos após a sua degradação. Na matéria particulada das ETE, a FE dos antifúngicos era ligeiramente diferente de 0,5 no afluente e 0,5 após tratamento anaeróbio, sem variação da concentração. O tebuconazol foi quantificado nos rios, com uma FE superior a 0,52.	[117]
ATE, MET, nadolol, pindolol, PHO, sotalol, citalopram, FLX e SBT	Águas residuais (Canadá)	A FE foi diferente de 0,5 no afluente (excepto para PHO e MET) e no efluente (excepto para ATE e MET). A FE variou para todos os FQ, excepto no caso do MET (racémico), do SBT e sotalol (quantificados como não-racémicos).	[84]
ATE, MET, PHO, sotalol, citalopram, paroxetina, naproxeno e temazepan	Águas residuais (Canadá)	Em efluentes de uma lagoa aerada rural, os FQ foram encontrados geralmente como não-racémicos (excepto tempazepam), tendo sido observadas variações temporais da FE para todos, excepto no caso do sotalol. Diferenças de FE entre ETE foram descritas para o citalopram, ATE, sotalol e temazepam, enquanto a FE do MET foi semelhante entre as três ETE estudadas.	[83]
IBU, naproxeno e cetoprofeno, FLX, NFLX, OFL, flumequina, ATE, MET, sotalol, PHO e seu metabolito 4-OH-PHO, timolol, betaxolol, carazolol, pindolol, clenbuterol e SBT	Águas residuais e superficiais (Espanha)	Misturas racémicas foram detectadas no caso de IBU, ATE, sotalol e MET, na maioria das amostras. Verificou-se o enriquecimento de E2 do IBU e (S)-ATE em algumas amostras de águas superficiais e do (S)-ATE em duas ETE. Nas amostras de afluente, efluente e água superficiais, foram detectadas maiores concentrações de (S)-PHO, (S)-FLX e E2 do SBT.	[28]
ALP, BSP, MET, PHO, SBT, VNF, FLX e o metabolito NFLX	Águas residuais	Os enantiômeros da FLX, BSP, MET, PHO e VNF foram detectados. A FE dos antidepressivos VNF e FLX diferiu de 0,5.	[54]
VNF, efedrinas e drogas de abuso	Águas residuais	A FE do antidepressivo VNF diminuiu do afluente para o efluente.	[81]
ATE, VNF, efedrinas e drogas de abuso	Águas residuais	A FE da VNF e ATE aumentou entre o afluente e o efluente, com enantiosseletividade maior na ETE com tratamento de lamas ativadas e na primavera e verão.	[78]
ATE, MET, PHO, FLX, VNF e drogas de abuso	Águas residuais e superficiais (Reino Unido)	O MET foi quantificado em efluentes; a VNF, PHO e ATE foram quantificados em efluentes e em águas fluviais. Todos os compostos diferiam na FE entre os efluentes e as águas fluviais.	[77]
VNF, desmetil-VNF, FLX, citalopram, desmetil-citalopram, ATE, ALP, MET, PHO, sotalol, mirtazapina, SBT, efedrinas e drogas de abuso	Águas residuais e lamas (Reino Unido)	A FE dos FQ estudados era diferente de 0,5 e variou entre as frações sólida e líquida das águas residuais.	[114]

Abreviaturas: ALP, alprenolol; ATE, atenolol; BSP, bisoprolol; FLX, fluoxetina; IBU, ibuprofeno; MET, metoprolol; NFLX, norfluoxetina; PHO, propranolol; SBT, salbutamol; VNF, venlafaxina.

0,66-0,86 e 0,54-0,66, respectivamente. Mais recentemente, o mesmo grupo<sup>74</sup> verificou que as concentrações destes compostos diminuíram entre o afluente e o efluente, com níveis de concentrações na gama de  $\mu\text{g L}^{-1}$  no afluente e na gama de  $\text{ng L}^{-1}$  no efluente, com variações significativas da FE do IBU de 0,93 para 0,39 entre o afluente e o efluente, não havendo variação significativa da FE do cetoprofeno. No caso do naproxeno, a diminuição foi de 0,99 para 0,91. O naproxeno foi estudado em águas residuais e superficiais, com o (*R*)-naproxeno apenas detectado nos efluentes, com uma FE de 0,88–0,91. Nesse mesmo estudo a FE no rio variou entre 0,84 e 0,98.<sup>115</sup>

Num trabalho desenvolvido por Fono e Sedlak,<sup>66</sup> o PHO foi determinado como racémico nos afluentes de cinco ETE localizadas em locais diferentes dos EUA, enquanto após o tratamento secundário a FE foi  $\leq 0,42$ . Num outro estudo, a FE média do MET foi de 0,50 nos efluentes de ETE, tendo a FE média diminuído do efluente para jusante, sugerindo a degradação biológica.<sup>86</sup> A biotransformação do MET foi observada num pequeno riacho na Alemanha,<sup>76</sup> com uma diminuição da concentração média de  $310 \text{ ng L}^{-1}$  para  $84 \text{ ng L}^{-1}$  e da FE de 0,49 para 0,43 entre 2 pontos, tendo-se verificado variações temporais na FE. O beta-bloqueador PHO foi enantiosseletivamente quantificado no rio Cega (Segóvia, Espanha) por Morante-Zarcano,<sup>90</sup> com  $1.35 \mu\text{g L}^{-1}$  de (*R*)-PHO e  $1.22 \mu\text{g L}^{-1}$  de (*S*)-PHO. Num estudo que incluiu os beta-bloqueadores PHO, MET, ATE e pindolol, o mesmo grupo de investigadores detetou todos os enantiómeros abaixo dos limites de quantificação ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$  para pindolol e PHO,  $40 \mu\text{g L}^{-1}$  para MET e  $70 \mu\text{g L}^{-1}$  para ATE).<sup>91</sup> Três beta-bloqueadores (ATE, MET e PHO) foram estudados no Canadá e encontrados em concentrações inferiores a  $1200 \text{ ng L}^{-1}$ , como a soma de ambos os enantiómeros,<sup>85</sup> com uma FE de 0,5 para todos os fármacos no afluente de ETE urbana, em ambas as datas de amostragem. As FE de ATE e PHO em agosto e do PHO em novembro nos efluentes foram diferentes de 0,5, sugerindo degradação biológica. No afluente de ETE rural, a FE foi diferente de 0,5 para MET e ATE, sendo a FE do MET racémica no efluente. O beta-bloqueador MET e dois dos seus metabolitos foram estudados na Suécia, em amostras de águas residuais tratadas,<sup>64</sup> sendo o MET determinado com FE entre 0,51 e 0,55 e dois estereoisómeros do  $\alpha$ -hidroxi-MET também quantificados. O ATE foi também encontrado em três ETE localizadas em Espanha, com uma maior predominância do (*S*)-enantiómero nos afluentes, contudo foi observado enriquecimento de um ou outro enantiómero, dependendo do tipo de tratamento usado nas ETE.<sup>116</sup> A biodegradação enantiosseletiva da VNF foi evidenciada num rio francês, com VNF racémica encontrada à saída da principal ETE com variação da FE ao longo de 30 km desse rio.<sup>69</sup> A VNF e *O*-desmetil-VNF foram detectadas em todas as amostras de água do rio, sendo o metabolito determinado em concentrações mais altas do que o composto original. Gasser *et al.*<sup>68</sup> relataram o comportamento de VNF e seus metabolitos, durante os processos de tratamento de seis ETE a operar em diferentes condições em Israel, sendo que em todas as ETE, a VNF (concentração média de  $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ ) teve valores de FE próximos de 0,5, com uma pequena variação até 25 %, após tratamentos primário e secundário. O único metabolito detectado (*O*-desmetil-VNF) teve uma elevada variação da FE para a maioria das ETE durante o tratamento secundário, com concentrações médias acima de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ , após tratamento primário e secundário, embora não tenha sido encontrada uma correlação entre as variações observadas e as características de funcionamento das ETE. Os enantiómeros da FLX e seu metabolito desmetilado NFLX foram encontrados na Suécia na gama de  $3,5\text{--}16 \text{ ng L}^{-1}$  no afluente e  $1,2\text{--}15 \text{ ng L}^{-1}$  em águas residuais tratadas.<sup>63,79</sup> A concentração de (*S*)-FLX foi superior à concentração de (*R*)-FLX em ambos os afluente e efluente tratado, com FE entre 0,68 e 0,71 em ambas as matrizes.

Os inibidores da bomba de prótons também foram pesquisados em amostras ambientais, sendo os enantiómeros do omeprazol

detectados no afluente de uma ETE e não detectados na amostra de efluente, bem como nas amostras recolhidas ao longo do rio Monjolinho (Brasil). Ambos os enantiómeros foram detectados numa amostra do estuário do rio Douro, em Portugal.<sup>82</sup> Os enantiómeros do lansoprazol e pantoprazol não foram encontrados nas amostras de águas residuais recolhidas diretamente da descarga ao longo do rio Monjolinho no Brasil.<sup>80</sup> Os antifúngicos quirais (econazol, cetoconazol, miconazol, tebuconazol e propiconazol) são uma classe que só foi relatada em matrizes ambientais por Huang *et al.*,<sup>75</sup> tendo as concentrações dos enantiómeros de cetoconazol e miconazol diminuído entre o afluente e o efluente das ETE, mas somente o miconazol teve variação da FE, sugerindo uma ligeira enantiosseletividade na transformação. O econazol, cetoconazol e miconazol foram quantificados como racémicos em amostras de lamas, com a FE entre 0,49 e 0,51. O mesmo grupo de investigadores estudou os mesmos antifúngicos quirais (excepto propiconazol) em águas residuais e superficiais.<sup>117</sup> Neste estudo, a FE nos afluentes foi globalmente de 0,5, não variando significativamente após tratamento na ETE, mesmo quando as concentrações diminuíram muito, sugerindo uma degradação fracamente enantiosseletiva. Pelo contrário, na matéria particulada das águas residuais, a FE dos antifúngicos foi ligeiramente diferente de 0,5 no afluente e 0,5 após tratamento anaeróbio, sem variação da concentração. O fármaco tebuconazol, também usado na agricultura para controle de fungos, foi quantificado nos rios, com uma FE superior a 0,52.<sup>117</sup>

Existem alguns trabalhos publicados sobre análise enantiosseletiva de FQ de várias classes terapêuticas (multi-classe), alguns deles incluindo drogas de abuso e efedrinas. MacLeod *et al.*<sup>84</sup> publicaram um trabalho de referência ambiental no Canadá, incluindo alguns beta-bloqueadores (ATE, MET, nadolol, pindolol, PHO e sotalol), dois inibidores da recaptção seletiva da serotonina (citalopram, FLX) e um beta<sub>2</sub>-agonista (salbutamol, SBT). Neste trabalho realizado no Canadá, todos os analitos foram encontrados em níveis de  $\text{ng L}^{-1}$ , excepto o pindolol que não foi detectado. As concentrações médias estiveram entre 10 e  $971 \text{ ng L}^{-1}$  (afluente) e entre 14 e  $664 \text{ ng L}^{-1}$  (efluente tratado). A FE foi diferente de 0,5 no afluente (excepto para PHO e MET) e no efluente (excepto para ATE e MET), tendo variado para todos os fármacos, excepto no caso do MET que permaneceu racémico, e nos casos do SBT e sotalol que foram sempre quantificados como não-racémicos. Mais tarde, MacLeod and Wong<sup>83</sup> estudaram também, no Canadá, alguns beta-bloqueadores (ATE, MET, PHO, sotalol), dois inibidores da recaptção seletiva da serotonina (citalopram e paroxetina), o AINE naproxeno e a benzodiazepina temazepam. Estes FQ foram encontrados abaixo de  $530 \text{ ng L}^{-1}$ , como média ponderada no tempo. No inverno foram encontradas concentrações mais elevadas, havendo alterações temporais na concentração de quase todos os FQ (excepto ATE e MET). Em efluentes de uma lagoa aerada rural, os FQ foram encontrados geralmente como não-racémicos (excepto temazepam), tendo sido observadas variações temporais da FE para todos, excepto no caso do sotalol. Diferenças de FE entre ETE foram descritas para o citalopram, ATE, sotalol e temazepam, enquanto a FE do MET foi semelhante nas três ETE estudadas. Num trabalho recente desenvolvido por López-Serna *et al.*,<sup>28</sup> dezesseis fármacos (analgésicos, antibióticos beta-agonistas, drogas psiquiátricas e cardiovasculares) e dois metabolitos foram quantificados em afluentes e efluentes de ETE e água de rio, em Espanha. As concentrações médias no geral foram inferiores a  $100 \text{ ng L}^{-1}$ , com as seguintes exceções com concentrações médias superiores a  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ : naproxeno, cetoprofeno, IBU e ATE. IBU, ATE, sotalol e MET foram encontrados como misturas racémicas na maioria das amostras, com exceções, como o enriquecimento de E2 do IBU e (*S*)-ATE em algumas amostras de águas superficiais. A transformação enantiosseletiva do ATE foi descrita em duas ETE com o enriquecimento do (*S*)-enantiómero.

(S)-PHO, (S)-FLX e E2 do SBT foram predominantes nas amostras de afluente, efluente e água superficiais. Recentemente, um estudo<sup>54</sup> em efluentes de 3 ETE do norte de Portugal englobou sete fármacos: beta-bloqueadores (ALP, bisoprolol (BSP), MET, PHO); o beta<sub>2</sub>-adrenérgico SBT; dois antidepressivos VNF e FLX; e o seu metabolito NFLX. Neste estudo, os enantiômeros da FLX, BSP, MET, PHO e VNF foram detectados, tendo a VNF e FLX apresentado valores de FE diferentes de 0,5.

Relativamente aos trabalhos ambientais de análise enantiosseletiva de fármacos multi-classe, que incluem drogas de abuso e efedrinas, num dos trabalhos, a FE do antidepressivo VNF diminuiu de afluente para o efluente.<sup>81</sup> Num outro trabalho do mesmo grupo, a VNF foi encontrada em níveis de ng L<sup>-1</sup> no afluente e no efluente, enquanto o ATE foi encontrado em níveis de µg L<sup>-1</sup> em ambas as amostras, tendo a FE da VNF e ATE aumentado entre o afluente e o efluente, com predominante enantiosseletividade na ETE com tratamento de lamas ativadas e enantiosseletividade superior na primavera e verão, provavelmente devido à maior atividade microbiana.<sup>78</sup> No Reino Unido, o MET foi quantificado em efluentes, enquanto a VNF, PHO e ATE foram quantificados em efluentes e em águas fluviais, com todos os compostos diferindo na FE encontrada nos efluentes e nas águas fluviais.<sup>77</sup> Recentemente foi publicado um outro estudo no Reino Unido, que determinou o perfil enantiomérico de FQ e drogas de abuso em águas residuais e lamas colhidas nas ETE,<sup>114</sup> sendo concluído que, além dos compostos terem uma FE diferente de 0,5, esta também varia entre as frações sólida e líquida das águas residuais. Esses resultados demonstram que a análise da fração sólida é importante em estudos de monitorização de águas residuais, caso contrário a remoção nas ETE poderá estar a ser sobrestimada.

### Tendências analíticas para amostras quirais no ambiente e em estudos de biodegradação

Os primeiros estudos de análise quiral no ambiente usaram FEQ baseadas em ciclodextrinas e métodos indiretos com derivatização.<sup>62,66,86</sup> Não obstante, os dois métodos têm sido utilizados até ao momento.<sup>71,73,74</sup> Considerando FEQ derivadas de antibióticos macrocíclicos, os primeiros relatos datam de 2006 e 2007.<sup>84,85</sup> Desde 2010, três tipos de FEQ têm sido amplamente utilizadas, incluindo derivadas de proteínas,<sup>63,75-79,81</sup> derivadas de polissacarídeos,<sup>80,82,90,91</sup> e derivadas de antibióticos macrocíclicos.<sup>28,50-54,68,69,72,77,83,90</sup> Uma FEQ baseada em poli-prolina foi descrita num estudo de biodegradação com varfarina, sob o modo de eluição normal.<sup>48</sup> Três outros estudos com modo normal de eluição foram publicados em 2012, dois deles sobre pesquisa de beta-bloqueadores em águas superficiais<sup>90,91</sup> e um trabalho sobre a biodegradação enantiosseletiva da varfarina em solos.<sup>48</sup> A maioria das análises quirais ambientais utiliza o modo reverso de eluição.<sup>52-54,63,64,69,75-84,87,88</sup> Ultimamente, a eluição no modo polar iônico começa a ser mais frequente e é relatada tanto em estudos de biodegradação, como de ocorrência ambiental de fármacos e de algumas drogas ilícitas (e.g., anfetaminas e metanfetaminas),<sup>28,50,51,72,77</sup> utilizando FEQ derivadas de antibióticos macrocíclicos. Assim, em análises ambientais, LC com FEQ derivadas de antibióticos macrocíclicos, de proteínas e de polissacarídeos são mais frequentes, e ciclodextrina em GC-MS em menor extensão.

O desafio de análises ambientais residuais está em estabelecer métodos para quantificação de fármacos de diversas classes terapêuticas em concentrações vestigiais. Enquanto em métodos aquirais, essa abordagem já está bem estabelecida,<sup>59</sup> as análises enantiosseletivas ainda estão restritas a fármacos pertencentes a poucas classes terapêuticas. A determinação de resíduos múltiplos em análises quirais é difícil devido à falta de separação enantiosseletiva simultânea de diferentes classes terapêuticas e/ou grupos químicos, utilizando as

mesmas condições cromatográficas, e à baixa eficiência da maioria das colunas quirais comerciais.<sup>46</sup>

### AGRADECIMENTOS

UID/Multi/04423/2013 e projeto UID/Multi/50016/2013 - Fundação para a Ciência e a tecnologia (FCT) através do *European Regional Development Fund* (ERDF), programa PT2020. Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN). Este trabalho foi financiado pela FCT através do projeto PTDC/EBB-EBI/111699/2009 e pela CESPU (PHARMADRUGS-CESPU-2014). A. R. Ribeiro agradece à FCT, Portugal (Ref. SFRH/BPD/101703/2014).

### REFERÊNCIAS

1. Diretiva 2008/105/EC; *Off. J. Eur. Union* **2008**, 384, 84.
2. <http://chm.pops.int/TheConvention/Overview/tabid/3351/Default.aspx>, acessada em dezembro 2015.
3. Ribeiro, C.; Ribeiro, A. R.; Tititan, M. E.; *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* (2015), doi:10.1007/398\_2015\_5006.
4. Jurado, A.; Vázquez-Suñé, E.; Carrera, J.; López de Alda, M.; Pujades, E.; Barceló, D.; *Sci. Total Environ.* **2012**, 440, 82.
5. Daughton, C. G.; *Lancet* **2002**, 360, 1035.
6. Daughton, C. G.; Ternes, T. A.; *Environ. Health Perspect.* **1999**, 6, 907.
7. Santos, L. H. M. L. M.; Araújo, A. N.; Fachini, A.; Pena, A.; Delerue-Matos, C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *J. Hazard. Mater.* **2010**, 175, 45.
8. Gunnarsdóttir, R.; Jenssen, P. D.; Erland Jensen, P.; Villumsen, A.; Kallenborn, R.; *Ecol. Eng.* **2013**, 50, 76.
9. Diretiva 2013/39/EU; *Off. J. Eur. Union* **2013**, L226, 1.
10. Decisão 495/2015; *Off. J. Eur. Union* **2015**, L78, 40.
11. Portaria 2.914, de 12 de dezembro; *Diário Oficial da União* **2011**, 239, 39.
12. Daughton, C. G. Em *Contaminants of Emerging Concern in the Environment: Ecological and Human Health Considerations*; Halden, R. U., ed.; American Chemical Society: Washington, DC, 2010, cap. 2.
13. Liu, J.-L.; Wong, M.-H.; *Environ. Int.* **2013**, 59, 208.
14. Deschamps, E.; Vasconcelos, O.; Lange, L.; Donnici, C. L.; da Silva, M. C.; Sales, J. A.; *Braz. J. Pharm. Sci.* **2012**, 48, 727.
15. Glassmeyer, S. T.; Hinchey, E. K.; Boehme, S. E.; Daughton, C. G.; Ruhoy, I. S.; Conerly, O.; Daniels, R. L.; Lauer, L.; McCarthy, M.; Nettesheim, T. G.; Sykes, K.; Thompson, V. G.; *Environ. Int.* **2009**, 35, 566.
16. Rivera-Utrilla, J.; Sánchez-Polo, M.; Ferro-García, M. Á.; Prados-Joya, G.; Ocampo-Pérez, R.; *Chemosphere* **2013**, 93, 1268.
17. Kümmerer, K.; *J. Environ. Manage.* **2009**, 90, 2354.
18. Verlicchi, P.; Al Aukidy, M.; Galletti, A.; Petrovic, M.; Barceló, D.; *Sci. Total Environ.* **2012**, 430, 109.
19. Santos, L. H. M. L. M.; Gros, M.; Rodriguez-Mozaz, S.; Delerue-Matos, C.; Pena, A.; Barceló, D.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Sci. Total Environ.* **2013**, 461–462, 302.
20. Tijani, J.; Fatoba, O.; Petrik, L. F.; *Water, Air, Soil Pollut.* **2013**, 224, 1.
21. Verlicchi, P.; Zambello, E.; *Sci. Total Environ.* **2014**, 470–471, 1281.
22. Verlicchi, P.; Al Aukidy, M.; Zambello, E.; *Sci. Total Environ.* **2012**, 429, 123.
23. Ribeiro, A. R.; Nunes, O. C.; Pereira, M. F. R.; Silva, A. M. T.; *Environ. Int.* **2015**, 75, 33.
24. Müller, T. A.; Kohler, H. P. E.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2004**, 64, 300.
25. Hühnerfuss, H.; Shah, M. R.; *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 481.
26. Cox, P. J.; *Talanta* **1994**, 41, 343.
27. Caldwell, J.; Hutt, A. J.; Fournel-Gigleux, S.; *Biochem. Pharmacol.* **1988**, 37, 105.



28. López-Serna, R.; Kasprzyk-Hordern, B.; Petrović, M.; Barceló, D.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 5859.
29. Ribeiro, A. R.; Castro, P. M. L.; Tiritan, M. E. Em: *Environmental Chemistry for a Sustainable World, Volume 2: Remediation of Air and Water Pollution*; Lichtfouse, E.; Schwarzbauer, J.; Robert, D., eds.; Springer: Netherlands, 2012, cap. 1.
30. Leach, A. G.; Pilling, E. A.; Rabow, A. A.; Tomasi, S.; Asaad, N.; Buurma, N. J.; Ballard, A.; Narduolo, S.; *Med. Chem. Commun.* **2012**, *3*, 528.
31. Mannschreck, A.; Kiesswetter, R.; von Angerer, E.; *J. Chem. Educ.* **2007**, *84*, 2012.
32. Lima, V. L. E.; *Quim. Nova* **1997**, *20*, 657.
33. Nunez, M. C.; Garcia-Rubino, M. E.; Conejo-Garcia, A.; Cruz-Lopez, O.; Kimatrai, M.; Gallo, M. A.; Espinosa, A.; Campos, J. M.; *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 2064.
34. Campo, V. L.; Bernardes, L. S. C.; Carvalho, I.; *Curr. Drug Metab.* **2009**, *10*, 188.
35. Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 683.
36. Augusti, D. V.; Augusti, R.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 351.
37. Nguyen, L. A.; He, H.; Pham-Huy, C.; *Int. J. Biomed. Sci.* **2006**, *2*, 85.
38. Cordato, D. J.; Mather, L. E.; Herkes, G. K.; *J. Clin. Neurosci.* **2003**, *10*, 649.
39. Hutt, A. J.; Valentová, J.; *Acta Fac. Pharm. Univ. Comen.* **2003**, *50*, 7.
40. Caner, H.; Groner, E.; Levy, L.; Agranat, I.; *Drug Discov. Today* **2004**, *9*, 105.
41. Agranat, I.; Wainshtein, S. R.; Zusman, E. Z.; *Nat. Rev. Drug Discov.* **2012**, *11*, 972.
42. U. S. Pharmaceutical Sales - 2012, Drugs.com, acessada em dezembro 2015.
43. Tucker, G. T.; *Lancet* **2000**, *355*, 1085.
44. Orlando, R. M.; Cardoso Filho, N.; Gil, E. S.; Stringhetta, J. P. S.; *Revista Eletrônica de Farmácia* **2007**, *IV*, 8.
45. Gonçalves, R. F.; Lauretti, G. R.; Mattos, A. L.; *Rev. Bras. Anestesiol.* **2003**, *53*, 169.
46. Ribeiro, A. R.; Maia, A. S.; Cass, Q. B.; Tiritan, M. E.; *J. Chromatogr. B* **2014**, *968*, 8.
47. Ribeiro, A. R.; Castro, P. M. L.; Tiritan, M. E.; *Environ. Chem. Lett.* **2012**, *10*, 239.
48. Lao, W.; Gan, J.; *Chirality* **2012**, *24*, 54.
49. Patrick, R.; Jan, S.; Andreas, S.; Timm, K.; Burkhard, S.; *Environ. Chem. Lett.* **2011**, *9*, 293.
50. Ribeiro, A. R.; Afonso, C. M.; Castro, P. M. L.; Tiritan, M. E.; *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2013**, *87*, 108.
51. Ribeiro, A. R.; Afonso, C. M.; Castro, P. M. L.; Tiritan, M. E.; *Environ. Chem. Lett.* **2013**, *11*, 83.
52. Moreira, I. S.; Ribeiro, A. R.; Afonso, C. M.; Tiritan, M. E.; Castro, P. M. L.; *Chemosphere* **2014**, *111*, 103.
53. Ribeiro, A. R.; Maia, A. S.; Moreira, I. S.; Afonso, C. M.; Castro, P. M. L.; Tiritan, M. E.; *Chemosphere* **2014**, *95*, 589.
54. Ribeiro, A. R.; Santos, L. H. M. L. M.; Maia, A. S.; Delerue-Matos, C.; Castro, P. M. L.; Tiritan, M. E.; *J. Chromatogr. A* **2014**, *1363*, 226.
55. Stanley, J. K.; Brooks, B. W.; *Integr. Environ. Assess. Manage.* **2009**, *5*, 364.
56. Petrie, B.; Barden, R.; Kasprzyk-Hordern, B.; *Water Res.* **2015**, *72*, 3.
57. Connors, K. A.; Du, B.; Fitzsimmons, P. N.; Chambliss, C. K.; Nichols, J. W.; Brooks, B. W.; *Chirality* **2013**, *25*, 763.
58. Kümmerer, K.; *Chemosphere* **2009**, *75*, 417.
59. Madureira, T. V.; Barreiro, J. C.; Rocha, M. J.; Cass, Q. B.; Tiritan, M. E.; *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 7033.
60. Madureira, T. V.; Barreiro, J. C.; Rocha, M. J.; Rocha, E.; Cass, Q. B.; Tiritan, M. E.; *Sci. Total Environ.* **2010**, *408*, 5513.
61. Santos, L. H. M. L. M.; Paíga, P.; Araújo, A. N.; Pena, A.; Delerue-Matos, C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *J. Chromatogr. B* **2013**, *930*, 75.
62. Buser, H.-R.; Poiger, T.; Muller, M. D.; *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 2529.
63. Barclay, V. K. H.; Tyrefors, N. L.; Johansson, I. M.; Pettersson, C. E.; *J. Chromatogr. A* **2012**, *1227*, 105.
64. Barclay, V. K. H.; Tyrefors, N. L.; Johansson, I. M.; Pettersson, C. E.; *J. Chromatogr. A* **2012**, *1269*, 208.
65. Evans, S. E.; Kasprzyk-Hordern, B.; *Trends Environ. Anal. Chem.* **2014**, *1*, e34.
66. Fono, L. J.; Sedlak, D. L.; *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 9244.
67. Hashim, N. H.; Shafie, S.; Khan, S. J.; *Environ. Technol.* **2010**, *31*, 1349.
68. Gasser, G.; Pankratov, I.; Elhanany, S.; Werner, P.; Gun, J.; Gelman, F.; Lev, O.; *Chemosphere* **2012**, *88*, 98.
69. Li, Z.; Gomez, E.; Fenet, H.; Chiron, S.; *Chemosphere* **2013**, *90*, 1933.
70. Winkler, M.; Lawrence, J. R.; Neu, T. R.; *Water Res.* **2001**, *35*, 3197.
71. Matamoros, V.; Hijosa, M.; Bayona, J. M.; *Chemosphere* **2009**, *75*, 200.
72. Bagnall, J.; Malia, L.; Lubben, A.; Kasprzyk-Hordern, B.; *Water Res.* **2013**, *47*, 5708.
73. Hashim, N. H.; Khan, S. J.; *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 4746.
74. Hashim, N. H.; Stuetz, R. M.; Khan, S. J.; *Chirality* **2013**, *25*, 301.
75. Huang, Q.; Zhang, K.; Wang, Z.; Wang, C.; Peng, X.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *403*, 1751.
76. Kunkel, U.; Radke, M.; *Water Res.* **2012**, *46*, 5551.
77. Bagnall, J. P.; Evans, S. E.; Wort, M. T.; Lubben, A. T.; Kasprzyk-Hordern, B.; *J. Chromatogr. A* **2012**, *1249*, 115.
78. Kasprzyk-Hordern, B.; Baker, D. R.; *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46*, 1681.
79. Barclay, V. K. H.; Tyrefors, N. L.; Johansson, I. M.; Pettersson, C. E.; *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 5587.
80. Barreiro, J. C.; Vanzolini, K. L.; Cass, Q. B.; *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 2865.
81. Kasprzyk-Hordern, B.; Kondakal, V. V. R.; Baker, D. R.; *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 4575.
82. Barreiro, J. C.; Vanzolini, K. L.; Madureira, T. V.; Tiritan, M. E.; Cass, Q. B.; *Talanta* **2010**, *82*, 384.
83. MacLeod, S. L.; Wong, C. S.; *Water Res.* **2010**, *44*, 533.
84. MacLeod, S. L.; Sudhir, P.; Wong, C. S.; *J. Chromatogr. A* **2007**, *1170*, 23.
85. Nikolai, L. N.; McClure, E. L.; MacLeod, S. L.; Wong, C. S.; *J. Chromatogr. A* **2006**, *1131*, 103.
86. Fono, L. J.; Kolodziej, E. P.; Sedlak, D. L.; *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 7257.
87. Baker, D. R.; Kasprzyk-Hordern, B.; *Sci. Total Environ.* **2013**, *454-455*, 442.
88. Kasprzyk-Hordern, B.; Baker, D. R.; *Sci. Total Environ.* **2012**, *423*, 142.
89. Wang, L.; McDonald, J. A.; Khan, S. J.; *J. Chromatogr. A* **2013**, *1303*, 66.
90. Morante-Zarcelero, S.; Sierra, I.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2012**, *62*, 33.
91. Morante-Zarcelero, S.; Sierra, I.; *Chirality* **2012**, *24*, 860.
92. Carvalho, P. O.; Cass, Q. B.; Calafatti, S. A.; Contesini, F. J.; Bizaco, R.; *Braz. J. Chem. Eng.* **2006**, *23*, 291.
93. Lämmerhofer, M.; *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 814.
94. Chankvetadze, B.; *J. Chromatogr. A* **2012**, *1269*, 26.
95. Tang, M.; Zhang, J.; Zhuang, S.; Liu, W.; *Trends Anal. Chem.* **2012**, *39*, 180.
96. Lourenço, T.d.C.; Cassiano, N. M.; Cass, Q. B.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 2155.
97. Ward, T.; Ward, K.; *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 4712.
98. Kalíková, K.; Riesová, M.; Tesařová, E.; *Cent. Eur. J. Chem.* **2012**, *10*, 450.
99. Scriba, G. E.; *Chromatographia* **2012**, *75*, 815.
100. Fernandes, C.; Tiritan, M.; Pinto, M.; *Chromatographia* **2013**, *76*, 871.
101. Haginaka, J.; *J. Chromatogr. B* **2008**, *875*, 12.

102. Perrin, C.; Vu, V. A.; Matthijs, N.; Maftouh, M.; Massart, D. L.; Vander Heyden, Y.; *J. Chromatogr. A* **2002**, *947*, 69.
103. Perrin, C.; Matthijs, N.; Mangelings, D.; Granier-Loyaux, C.; Maftouh, M.; Massart, D. L.; Vander Heyden, Y.; *J. Chromatogr. A* **2002**, *966*, 119.
104. Andersson, M. E.; Aslan, D.; Clarke, A.; Roeraade, J.; Hagman, G.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1005*, 83.
105. Cass, Q. B.; Batigalha, F.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *987*, 445.
106. Cass, Q. B.; Degani, A. L. G.; Cassiano, N. M.; *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2003**, *26*, 2083.
107. Sousa, E. P.; Tiritan, M. E.; Oliveira, R. V.; Afonso, C. M. M.; Cass, Q. B.; Pinto, M. M. M.; *Chirality* **2004**, *16*, 279.
108. Fernandes, C.; Brandão, P.; Santos, A.; Tiritan, M. E.; Afonso, C.; Cass, Q. B.; Pinto, M. M.; *J. Chromatogr. A* **2012**, *1269*, 143.
109. Fernandes, C.; Tiritan, M. E.; Cass, Q.; Kairys, V.; Fernandes, M. X.; Pinto, M.; *J. Chromatogr. A* **2012**, *1241*, 60.
110. Fernandes, C.; Palmeira, A.; Santos, A.; Tiritan, M. E.; Afonso, C.; Pinto, M. M.; *Chirality* **2013**, *25*, 89.
111. Zonja, B.; Aceña, J.; Pérez, S.; Barceló, D. Em *Comprehensive Analytical Chemistry Volume 62, Analysis, Removal, Effects and Risk of Pharmaceuticals in the Water Cycle Occurrence and Transformation in the Environment*; Petrovic, M.; Perez, S.; Barcelo D., eds.; Elsevier, 2013, cap. 16.
112. Pérez, S.; Barceló, D.; *Trends Anal. Chem.* **2008**, *27*, 836.
113. Richardson, S. D.; *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 4021.
114. Evans, S. E.; Davies, P.; Lubben, A.; Kasprzyk-Hordern, B.; *Anal. Chim. Acta* **2015**, *882*, 112.
115. Suzuki, T.; Kosugi, Y.; Hosaka, M.; Nishimura, T.; Nakae, D.; *Environ. Toxicol. Chem.* **2014**, *33*, 2671.
116. Vazquez-Roig, P.; Kasprzyk-Hordern, B.; Blasco, C.; Picó, Y.; *Sci. Total Environ.* **2014**, *494–495*, 49.
117. Huang, Q.; Wang, Z.; Wang, C.; Peng, X.; *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2013**, *20*, 8890.