

DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS NA BACIA DO ALTO IGUAÇU

Rodrigo Arimura Osawa¹ & Alessandra Honjo Ide² & Luana Jesus Oliveira Marcante² & Júlio César Rodrigues de Azevedo^{1,2*}

Resumo – A Bacia do Alto Iguaçu possui importância política e econômica no Estado do Paraná por estar localizada na capital do estado, Curitiba, e pelo fato de ser o principal manancial de abastecimento da Região Metropolitana de Curitiba (RMC). Porém, devido ao crescimento populacional, os corpos aquáticos estão sendo comprometidos por meio de despejos de efluentes domésticos e industriais. Este trabalho teve como objetivo determinar alguns compostos farmacêuticos do grupo dos anti-hipertensivos em corpos hídricos na bacia do Alto Iguaçu (rios Atuba, Palmital, Belém e Iguaçu), localizada na RMC. Estes fármacos são denominados contaminantes emergentes pelo fato de não existirem estudos sobre seus efeitos no ambiente. O Rio Belém foi o que apresentou a maior concentração de fármacos anti-hipertensivos, o que representa uma influência antrópica no corpo hídrico.

Palavras-Chave – Região Metropolitana de Curitiba, Despejos Domésticos, Betabloqueadores.

DETERMINATION OF ANTIHYPERTENSIVES DRUGS IN UPPER IGUAÇU WATERSHED

Abstract – The Upper Iguaçu Watershed has political and economic importance in the state of Paraná for being located in the state capital, Curitiba, and because it is the main source of water supply for Curitiba Metropolitan Region (RMC). However, due to the population growth, the water bodies are being affected by industrial and domestic wastewater. This study aimed to determine some antihypertensive pharmaceutical compounds in the Upper Iguaçu Watershed (Atuba, Palmital, Belém and Iguaçu rivers), located in the RMC. These drugs are called emerging contaminants because there are no studies on their effects on the environment. The Belém River presented the highest concentration of anti-hypertensive drugs, which represents an anthropogenic influence in this water body.

Keywords – Curitiba Metropolitan Region, Wastewater, Beta blockers.

INTRODUÇÃO

A água, um dos bens naturais de maior importância no planeta, é indispensável para muitas das atividades humanas, tais como abastecimento público e industrial, irrigação agrícola, geração de energia, atividades de lazer e recreação e manutenção da vida aquática. O uso múltiplo da água tem gerado uma demanda cada vez maior pelo recurso (SETTI *et al.*, 2001; TUNDISI *et al.*, 2008). Desta forma, questões relacionadas à quantidade e à qualidade da água têm chamado à atenção quanto a sua preservação.

¹ Afiliação: Universidade Federal do Paraná e-mail: rodrigo.osawa@gmail.

² Afiliação: Universidade Tecnológica Federal do Paraná e-mail: alessandrahide@hotmail.com

O processo de crescimento populacional associado à expansão urbana significa desenvolvimento econômico ligado ao avanço tecnológico e científico, porém significa também alterações no meio ambiente e nas condições da qualidade de vida da população. O crescimento urbano muitas vezes ocorre de forma desordenada, causando a escassez da água e aumentando a desigualdade social já que muitas áreas ocupadas não possuem infraestrutura adequada para a moradia humana (MELO *et al.*, 2010).

Uma das consequências do crescimento urbano é a contaminação das águas por efluentes domésticos e industriais, causada pela falta de coleta e tratamento de esgoto, que pode inviabilizar o abastecimento público por meio da eutrofização do ambiente aquático (TUNDISI *et al.*, 2008).

Desta forma, torna-se importante analisar algumas características químicas e físicas do ambiente aquático para avaliar a sua qualidade, porém tem se destacado também a presença de novos compostos, sintéticos ou naturais, presentes em produtos consumidos por grande parte da população e que acabam tendo como destino final os ecossistemas naturais, os chamados contaminantes emergentes (FERNÁNDEZ *et al.*, 2010; YOON *et al.*, 2010; STUART *et al.*, 2012).

Essas substâncias têm sido quantificadas em baixas concentrações em águas e sedimentos, pois com o avanço de técnicas analíticas como a cromatografia e a espectrometria de massas, compostos que antes não podiam ser detectados, agora podem ser quantificados em concentrações da ordem de ng.L^{-1} .

Produtos farmacêuticos e de higiene pessoal constituem um grupo de contaminantes emergentes que têm sido estudados nos últimos anos, devido ao fato de que muitos desses compostos são potencialmente perigosos no meio ambiente, são persistentes e biologicamente ativos com reconhecida desregulação das funções endócrinas. Esses compostos têm introdução contínua no meio e mesmo os menos nocivos podem apresentar efeitos adversos no ecossistema. Porém, muitos compostos ainda têm efeitos desconhecidos à biota e aos seres humanos (KASPRZYK-HORDERN *et al.*, 2008).

Um grupo de fármacos estudados atualmente pertence à classe dos betabloqueadores, que são usados para tratar doenças cardiovasculares, como a hipertensão. Segundo dados do Ministério da Saúde (2006), cerca de 17 milhões de brasileiros apresentam hipertensão arterial, 35% da população de 40 anos ou mais são portadores da doença e estima-se que 4% das crianças e adolescentes também são portadoras. Dependendo da cidade em estudo, a hipertensão arterial sistêmica varia de 22,3% a 43,9% na população urbana adulta brasileira.

Este trabalho teve como objetivo estudar a ocorrência de fármacos beta bloqueadores em quatro rios da Bacia do Alto Iguaçu: Belém, Atuba, Palmital e Iguaçu.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

Foram amostrados 14 pontos na Região Metropolitana de Curitiba em abril de 2012, sendo 4 pontos no Rio Iguaçu, 4 pontos no Rio Atuba, 3 pontos no Belém e 3 pontos no Rio Palmital conforme a Figura 1.

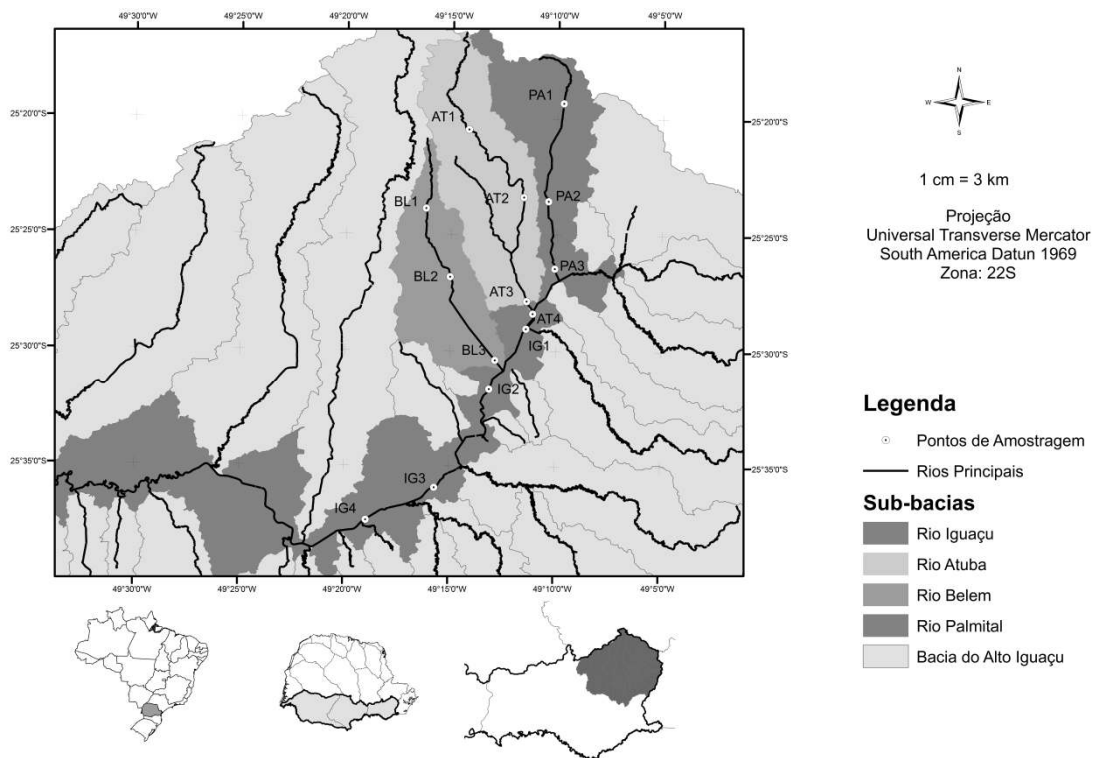


Figura 1 – Bacia do Alto Iguaçu com os pontos de amostragem
Fonte: O autor (2013)

Os pontos AT3 e o AT4 situam-se, respectivamente, a montante e a jusante da saída da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Atuba-Sul. O ponto BL3 situa-se na foz do Rio Belém no Rio Iguaçu. O PA1 se encontra próximo a nascente do Rio Palmital. O ponto IG1 está situado na junção dos rios Atuba e Iraí em Curitiba. O ponto IG2 localiza-se na junção do Rio Iguaçu com o Rio Belém.

Metodologia

Os padrões metoprolol (tartarato), propranolol (cloridrato) e nadolol e o derivatizante BSTFA + 1% TMCS utilizados são certificados da marca Sigma-Aldrich. Os solventes metanol, hexano, acetato de etila e acetona possuem grau UV/HPLC. As soluções padrão dos compostos foram preparadas em metanol e armazenadas a uma temperatura de -4°C numa concentração de 1000 g mL^{-1} . Na extração em fase sólida (SPE) foram utilizados cartuchos (6 mL) contendo 1000 mg de octadecilsilano (C18) da marca Chromabond.

Para as extrações, foram utilizadas amostras de água superficial (1000 mL), coletadas em garrafas âmbar e armazenadas em caixas térmicas até a chegada ao laboratório. As garrafas foram previamente descontaminadas com Extran e solventes hexano, diclorometano e metanol. As amostras foram filtradas com membrana de acetato de celulose $0,45\ \mu\text{m}$ e tiveram o pH ajustado para 10 por meio de uma solução de NaOH.

Os cartuchos foram condicionados com 5 mL de hexano, 5 mL de acetona, 10 mL de metanol e 5 mL de água ultra pura com pH 10. As amostras foram passadas pelos cartuchos num fluxo de $5\text{--}6\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Após a passagem das amostras, o cartucho foi lavado com um solução de 5 mL de

metanol a 5% em solução aquosa a 2% de NH₄OH. Os cartuchos foram secos com fluxo de nitrogênio, eluídos com 12 mL de metanol e rotaevaporados à temperatura de 45 °C. O resíduo seco foi reconstituído com 1 mL de metanol e armazenado a uma temperatura de -4°C para posterior análise.

Em todos os experimentos a derivatização foi realizada. As amostras foram evaporadas em *inserts* de 350 µL em estufa sob temperatura de 60°C. Após a secagem foram adicionados 50 µL do derivatizante (BSTFA + 1% TMCS) em uma temperatura de 60°C por 30 minutos para a reação. Após esta etapa, foram adicionados 50 µL de acetato de etila como solvente. Nas análises foi utilizado o método da adição do padrão, no qual foi adicionada uma concentração conhecida de padrão, após a derivatização.

A separação por GC/MS foi realizada em uma coluna capilar de sílica VF-5ms (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm) em um cromatógrafo gasoso modelo 431-GC (Varian) acoplado a um espectrômetro de massas do tipo *ion-trap* modelo 210-MS com amostrador automático (Varian Pal). A programação de temperatura do forno foi de 100 °C por 1 minuto, de 100 °C até 310 °C em uma taxa de 10 °C . min⁻¹ e permanecendo por 2 minutos, totalizando 24 minutos de corrida. A temperatura do injetor foi de 240 °C, a do *transfer line* foi de 300 °C, a do *ion source* foi de 200 °C e do *manifold* foi de 60 °C. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste com um fluxo constante de 1,2 mL. min⁻¹. Foram injetados 2 µL de amostra em modo *split/splitless*.

A análise da espectrometria de massa foi realizada utilizando a varredura completa e o modo de monitoramento de íons selecionados (SIM). No modo varredura completa, os espectros foram medidos por impacto de elétrons (EI) em 70 eV e os íons com m/z 40-650 foram monitorados.

Segue a tabela das características físicas e químicas dos fármacos analisados e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ).

Tabela 1 - Características físicas e químicas dos fármacos

Fármaco	Número CAS	Fórmula molecular	Peso molecular	Log Kow	pKa	LD (ng.L-1)	LQ (ng.L-1)
Metoprolol	37350-58-6	C ₁₅ H ₂₅ NO ₃	267,36	1,88	9,68	8	26
Propranolol	525-66-6	C ₁₆ H ₂₁ NO ₂	259,34	3,48	9,45	5	18
Nadolol	42200-33-9	C ₁₇ H ₂₇ NO ₄	309,4	0,71	9,67	6	19

RESULTADOS

Foram detectados os fármacos nos rios Atuba, Palmital, Belém e Iguaçu, conforme Tabela 2. O metoprolol foi detectado em todos os pontos do Rio Belém e nos pontos PA2, PA3 e IG2. No ponto BL3, foi detectada a maior concentração do metoprolol (1153,94 ng.L-1), do nadolol (299,58 ng.L-1), e do propranolol (400,33 ng.L-1). Nos pontos BL1 e BL2 foi detectado somente o metoprolol, provavelmente, por ser o composto mais consumido.

No ponto IG2, após a ETE-Belém as concentrações dos fármacos foram menores quando comparadas às concentrações determinadas no ponto BL3. Este ponto, localizado na foz do Rio Belém, apresenta uma grande influência da cidade de Curitiba e encontra-se altamente degradado. Nos pontos PA2 e PA3 existem ocupações irregulares que podem estar contribuindo com a entrada deste fármaco. O ponto PA2 localiza-se depois da Vila Zumbi, uma região com alta densidade populacional desprovida de coleta e tratamento de esgotos e o ponto PA3 está localizado próximo a foz do Rio Palmital no Rio Iraí . Neste caso, o Rio Palmital sofre a influência dos municípios de Colombo, Curitiba e Pinhais.

Tabela 2 – Detecção de fármacos nos rios da Bacia do Alto Iguaçu

Rio	Pontos	Metoprolol (ng.L ⁻¹)	Propranolol (ng.L ⁻¹)	Nadolol (ng.L ⁻¹)
Atuba	AT1	<LD	<LD	<LD
Atuba	AT2	<LQ	<LD	<LD
Atuba	AT3	<LD	<LD	<LD
Atuba	AT4	<LD	<LD	<LD
Belém	BL1	35,81	<LD	<LD
Belém	BL2	56,66	<LD	<LD
Belém	BL3	1153,94	400,33	299,58
Palmital	PA1	<LD	<LD	<LD
Palmital	PA2	33,59	<LD	<LD
Palmital	PA3	251,42	112,59	39,11
Iguaçu	IG1	<LD	<LD	<LD
Iguaçu	IG2	126,89	128,67	64,13
Iguaçu	IG3	<LD	<LD	<LD
Iguaçu	IG4	<LD	<LD	<LD

Vieno (*et al.*, 2006) encontraram o metoprolol em concentrações de 1350 ng.L⁻¹ na entrada da ETE, 990 ng.L⁻¹ na saída da estação e 116 ng.L⁻¹ em água superficial no rio Vantaa na Finlândia. Hugget (*et al.*, 2003) encontrou o metoprolol, propranolol e nadolol em efluentes de 34 estações de tratamento no Estados Unidos, em concentrações média de 74 ng.L⁻¹, 117 ng.L⁻¹ e 52 ng.L⁻¹ respectivamente. Estes resultados corroboram com os valores obtidos neste estudo. As concentrações obtidas, nos diferentes rios avaliados, podem ser provenientes de esgotos brutos despejados nos rios ou de locais onde os tratamentos das ETEs não são eficientes para remover ou degradar estes compostos.

CONCLUSÃO

Os resultados das análises mostraram que os rios da RMC apresentam influência antrópica, provavelmente, proveniente de efluentes domésticos ou de efluentes das estações de tratamento de esgotos. O rio com maior nível de contaminação foi o Belém, no qual foram obtidas as maiores concentrações dos fármacos, o que pode indicar a presença de efluentes domésticos.

No Rio Iguaçu, no ponto IG2 foi possível perceber a influência da ETE-Belém, pois as concentrações dos fármacos diminuíram em relação ao ponto BL3, localizado antes da ETE,

possivelmente devido à diluição das concentrações dos fármacos pela alta vazão da estação. Nos pontos PA2 e PA3 os fármacos foram detectados provavelmente devido às ocupações irregulares na região.

Existem poucas pesquisas em relação à toxicidade desses compostos no meio ambiente e seus efeitos crônicos. Jara *et al.* (2010) demonstrou alterações fisiológicas em mexilhões de água doce da espécie *Dreissena polymorpha*, devido a presença de betabloqueadores em concentrações encontradas no ambiente. Pesquisas indicam a possibilidade de alterações na reprodução de peixes em contato com os beta-bloqueadores (HAIDER *et al.*, 2000; HUGGETT *et al.*, 2002).

Não existem normas e legislações sobre as concentrações que podem afetar a saúde humana. No entanto, alguns autores avaliaram o risco de exposição ambiental aos fármacos utilizando dados da ingestão diária aceitável. Estes dados foram utilizados para calcular as concentrações previsivelmente sem efeitos nocivos para os organismos por meio de modelos de avaliação (CUNNINGHAM *et al.*, 2009). Porém as interações que os fármacos provocam no meio ambiente são complexas e desconhecidas.

São necessários mais estudos para compreender a dinâmica desses contaminantes emergentes no meio aquático, portanto, é fundamental quantificá-las em concentrações mais próximas as encontradas no ambiente para estudar seus efeitos toxicológicos nos ecossistemas e na saúde humana.

A presença dos compostos analisados neste estudo sugere a presença de águas residuárias domésticas em alguns ambientes da Bacia do Alto Iguaçu e conclui-se então que diversas outras substâncias podem estar ocorrendo nesses corpos aquáticos. Portanto, torna-se importante a realização de mais estudos sobre o assunto, com a finalidade de identificar outras possíveis contaminações, conhecer os seus efeitos para a biota e para os seres humanos e incluir compostos potencialmente tóxicos nas legislações ambientais.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos Ao CNPq, à CAPES e à Secretaria da Ciência Tecnologia e Ensino Superior/Fundação Araucária pelo apoio financeiro e por bolsas de estudos.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. *Hipertensão Arterial Sistêmica*. Caderno de Atenção Básica. Secretaria de atenção à saúde. Departamento de Atenção à Saúde. Brasília 2006.

CUNNINGHAM, V. L.; BINKS, S. P.; OLSON, M. J. Human health risk assessment from the presence of human pharmaceuticals in the aquatic environment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 53 (2009), pp. 39–45. 2009.

FERNÁNDEZ, C.; GONZÁLEZ-DONCEL, M.; PRO, J.; CARBONELL, G.; TARAZONA, J. V. Occurrence of pharmaceutically active compounds in surface waters of the Henares-Jarama-

Tajo River system (Madrid, Spain) and a potential risk characterization. *The Science of the total environment*, 408(3), 543–51. 2010.

HAIDER, S.; BAQRI, S. S. R. β -Adrenoceptor antagonists reinitiate meiotic maturation in *Clarias batrachus* oocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 126 (2000) 517–525. 2000.

HUGGETT, D. B.; BROOKS, B. W.; PETERSON, B.; FORAN, C. M.; SCHLENK, D. Toxicity of Select Beta Adrenergic Receptor-Blocking Pharmaceuticals (B-Blockers) on Aquatic Organisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43, 229–235. 2002.

HUGGETT, D. B.; KHAN, I. A.; FORAN, C. M.; SCHLENK, D. Determination of beta-adrenergic receptor blocking pharmaceuticals in United States wastewater effluent. *Environmental Pollution* 121 (2003) 199–205. 2003.

JARA, C. V.; PFLUGMACHER, S.; NÜTZMANN, G.; KLOAS, W.; WIEGAND, C. The β -receptor blocker metoprolol alters detoxification processes in the non-target organism *Dreissena polymorpha*. *Environmental Pollution* 158, Issue 6, Pages 2059–2066, 2010.

KASPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water research*, 42(13), 3498–518. 2008.

MELO, N. L.; FONTINELE, W.; CARVALHO, A. L. Os impactos ambientais em função das ocupações irregulares em Araguaína-TO: O Setor Tereza Hilário Ribeiro Como Estudo de Caso. *Associação dos Geógrafos Brasileiros. XV Encontro Nacional de Geógrafos*. 2010.

SETTI, A. A.; LIMA, J. E. F. W.; CHAVES, A. G. de M.; PEREIRA, I. C. *Introdução ao Gerenciamento de Recursos Hídricos*. Agência Nacional de Energia Elétrica. Agências Nacionais de Águas, 3ª ed., Brasília, 2001.

STUART, M.; LAPWORTH, D.; CRANE, E.; HART, A. Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *The Science of the total environment*, 416, 1–21. 2012.

TUNDISI, José Galizia; TUNDISI, Takako Matsumura. *Limnologia*. São Paulo. Oficina de Textos, 2008.

VIENO, N. M.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Analysis of neutral and basic pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection. *Journal of chromatography. A*, 1134(1-2), 101–11. 2006.

YOON, Y.; RYU, J.; OH, J.; CHOI, B. G.; SNYDER, S. A. Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea). *The Science of the total environment*, 408(3), 636–43. 2010.