



CARACTERIZAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE METFORMINA EM AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL POR GC-MS

Andréa Sabag Duarte¹, Emylaine Pereira dos Santos², Natália Dantas Rocha Ferre³, José Eduardo Gonçalves^{4,5}, Luciana Andreia Borin de Carvalho⁶

¹Especialista, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Ambiental, Campus Maringá-PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM andreasabag@hotmail.com

²Acadêmica do Curso de Biomedicina, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica PIBIC8/ICETI-UniCesumar. emylainepereira4@gmail.com

³Acadêmica do Curso de Biomedicina, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. nataliaferre2004@gmail.com

⁴Orientador, Doutor do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas – PPGTL, Campus Maringá/PR, Universidade Cesumar - UNICESUMAR.

⁵Pesquisador do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Maringá/PR. jose.goncalves@unicesumar.edu.br

⁶Co-Orientadora, Doutora do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Ambiental e do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular. Campus Maringá-PR, Universidade Estadual de Maringá – UEM labcarvalho@uem.br

RESUMO

Nos últimos anos, houve um aumento significativo na comercialização de fármacos, porém, negligenciando o correto descarte e consequentemente um aumento destes resíduos no meio ambiente. Compostos farmacêuticos, como a metformina (usada no tratamento do diabetes tipo 2) pode contaminar o meio ambiente através de esgoto não tratado e estações de tratamento que não removem completamente esse composto. A falta de descarte adequado gera preocupações ambientais, com resíduos farmacêuticos poluindo recursos hídricos, mesmo em concentrações mínimas. Métodos analíticos como espectrometria de massa e cromatografia gasosa são usados para identificar a presença de compostos farmacêuticos na água. Assim, este trabalho visa desenvolver metodologia analítica para caracterização e identificação de metformina em amostras de água empregando extração em fase sólida e análise por GC-MS. O processo de análise de metformina irá necessitar de um protocolo de extração ao qual as amostras serão submetidas a extração em fase sólida (SPE) e posterior derivatização do material ressuspensido em metanol, para posterior análise por GC-MS e identificação de metformina em água. Os resultados obtidos neste trabalho permitirão o monitoramento e análise de metformina em água doce e assim possibilitará avaliar a presença de resíduo deste fármaco em corpos hídricos. Além disso, o desenvolvimento deste tipo de metodologia analítica para a caracterização e identificação de metformina pode ser aplicado no monitoramento ambiental de resíduos de fármacos. Espera-se que o desenvolvimento da metodologia de extração e análise por GC-MS de metformina em água, possa contribuir com a caracterização deste desregulador endócrino presente no meio ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Água; Descarte inadequado; Meio ambiente; Metformina; Método analítico.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da última década houve um aumento significativo na distribuição e venda de fármacos, permitindo fácil acesso a esses produtos. Contudo, há negligência no descarte apropriado e correto processamento. A entrada de produtos farmacêuticos no meio ambiente ocorre frequentemente por meio de efluentes de esgoto não tratados, ou mesmo através das estações de tratamento de águas residuais (ETARs), cujos métodos convencionais proporcionam apenas uma remoção parcial dos compostos farmacológicos (SILVA et. al, 2023).

Embora o Brasil tenha promulgado o Decreto n.º 10.388, estabelecendo um sistema de logística reversa para o descarte apropriado de medicamentos, os compostos farmacológicos persistem como contaminantes presentes no meio aquático. A presença desses compostos constitui um problema altamente preocupante devido ao risco ambiental decorrente de suas propriedades singulares, que propiciam sua persistência em aquíferos (GAFFNEY, 2014).

Nos últimos anos, o uso crescente da metformina como tratamento primário para diabetes mellitus tipo 2 (DM2), no Brasil, tem impulsionado notavelmente suas vendas



(TOBAR et. Al, 2023). Um exemplo concreto disso é o registro de aproximadamente 81,9 milhões de unidades deste medicamento comercializadas em apenas 12 meses até junho, de acordo com uma pesquisa realizada em uma das inúmeras marcas e laboratórios que oferecem remédios para diabéticos contendo Cloridrato de Metformina na composição (TELES, 2022).

Considerando que o Brasil anualmente gera uma estimativa de mais de 10 mil toneladas de resíduos farmacêuticos, dos quais pelo menos 20% são descartados irregularmente. Assim como a substância metformina, desde janeiro de 2021, figura na lista dos medicamentos mais comercializados, contabilizando mais de 23 milhões de vendas registradas, como também tem demonstrado potencial para o tratamento de outras condições médicas (TEIXEIRA, 2020). Essa situação suscita, indubitavelmente, uma significativa preocupação ambiental, abrangendo a possível contaminação de recursos hídricos, inclusive os destinados ao consumo humano.

Ainda que as concentrações de contaminantes encontradas na água sejam mínimas, variando entre $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ e $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (GARCÍA-GIL et al. 2018), estudos enfatizam que compostos de origem farmacêutica, mesmo que em quantidades reduzidas, podem induzir efeitos adversos no ecossistema receptor, persistindo mesmo após os processos convencionais de tratamento de águas. Este cenário é exacerbado pela limitação das estações de tratamento de esgoto e água, as quais não foram originalmente concebidas para a eficaz eliminação destes específicos grupos de contaminantes, suscitando uma inquietação emergente (GAFFNEY et al., 2015).

Considerando as reduzidas concentrações em questão, a utilização de métodos analíticos como a cromatografia gasosa e a espectrometria de massa demonstra alta eficácia na identificação e mesmo quantificação, da metformina, em amostras biológicas (SKRZYPEK et al., 2007.; SWALES et al., 2011.; MAJIDANO e KHUHAWAR, 2012). Tais análises abrangem não apenas efluentes, mas também águas de diversas naturezas: superficiais, subterrâneas e potáveis (CASTIGLIONI et al., 2018). É de especial relevância a investigação da presença destes compostos em sistemas de abastecimento de água tratada, com vistas a subsidiar ações governamentais, dada a escassez de pesquisas concernentes à detecção da metformina em corpos d'água de natureza doce.

Estudos prévios já evidenciaram a metformina como um fármaco recorrentemente detectado em águas superficiais (FERNANDES, 2021), ressaltando, assim, a imprescindibilidade da fiscalização em virtude dos riscos concomitantes associados ao ambiente e à saúde humana. Assim, este objetivo deste trabalho é desenvolver metodologia analítica para caracterização e identificação de metformina em amostras de água empregando extração em fase sólida e análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os padrões, solventes e reagentes utilizados no trabalho serão de grau HPLC. O padrão analítico de metformina utilizado no desenvolvimento experimental foi adquirido da Sigma-Aldrich. Foi criada uma solução estoque padrão de $400 \mu\text{g mL}^{-1}$ em metanol, armazenada em frascos de vidro âmbar a 4°C . A partir dessa solução estoque, estão sendo preparadas soluções de trabalho variando de 100 a 4000 ng mL^{-1} , diluídas em metanol para análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

Para o processo de extração da metformina, 1 L de amostra de água será eluído através de um cartucho de extração em fase sólida SPE com um fluxo de 10 mL min^{-1} . Após a metformina ser absorvida na fase sólida, o cartucho será lavado com 10 mL de água deionizada. Em seguida, o cartucho será seco a vácuo por 20 minutos para remover resíduos de água. O composto adsorvido será eluído com 3 mL de metanol HPLC. A porção



final será concentrada por fluxo de N₂ até à secura e, posteriormente, reconstituída em um vial de 2 mL com metanol. Esta solução será então derivatizada e sujeita à análise por GC-MS.

Após a extração em fase sólida, 2 mL da amostra de água ressuspensa em metanol serão transferidos para tubos de ensaio e evaporados à secura sob vácuo. O resíduo será derivatizado utilizando 40 µL de MBTFA a 80°C durante 60 minutos. Finalmente, 2 mL de metanol serão adicionados, homogeneizados, e a solução de metanólica será transferida para um frasco âmbar (vial) de 2 mL para análise por GC-MS.

As análises serão conduzidas em um cromatógrafo a gás modelo Agilent 7890B, com um injetor automático (CTC PAL Control), acoplado a um espectrômetro de massa (modelo Agilent 5977A MSD). A coluna utilizada é uma HP-5MS UI Agilent com fase de 5% de fenil metil siloxano (30,0 m x 250 µm d.i. x 0,25 µm de espessura do filme). A programação de temperatura do forno otimizado para a separação adequada dos analitos no sistema GC-MS é a seguinte: temperatura inicial de 90°C mantida por 2 minutos, seguida de uma rampa de aquecimento de 10 °C/min até 250 °C, mantida por 2 minutos, e um aumento final de temperatura de 50 °C/min até atingir 300 °C. Outras condições do método de análise incluem um volume de injeção de 2,0 µL no modo split na razão 10:1, fluxo do gás de arraste de 1,0 mL/min (He, pureza 99,99999%), ionização por impacto eletrônico de 70 eV, e temperaturas específicas: 230°C para a fonte de ionização, 150°C para o quadrupolo, 280°C para a linha de transferência e 280°C para o injetor. O solvente será eliminado após 3 minutos. A aquisição de dados está sendo conduzida pelo software MassHunter, e a análise qualitativa dos espectros de massas utilizando a biblioteca NIST 11.

3 RESULTADOS ESPERADOS E DISCUSSÕES

Espera-se que o estudo estabeleça uma correlação entre metodologias analíticas e a presença de metformina como resíduo farmacêutico em água, incitando ações para minimizar a problemática e promover o uso racional do fármaco. Também contribuirá para entender o impacto ambiental deste resíduo na região, influenciando a qualidade de vida local.

A iniciativa visa contribuir com estratégias de mitigação do problema por meio da metodologia desenvolvida que irão promover avanços científicos, sociais e ambientais e, consequentemente, aprimorar a qualidade de vida e o estado do ambiente. Em suma, esta proposta reveste-se de importância multifacetada, que abrange desde a inovação tecnológica até o enriquecimento do entendimento científico, visando a um futuro mais sustentável e saudável.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de resíduos de metformina no meio ambiente, pode ter impactos significativos nos ecossistemas e na saúde humana. Este composto é utilizado no tratamento da diabetes tipo 2 e pode ser excretada pelo corpo humano em suas formas não metabolizadas. Esses compostos podem entrar nos sistemas de água de diversas maneiras, principalmente através do descarte inadequado de medicamentos, sistemas de tratamento de água ineficientes ou lançamento direto em corpos d'água.

REFERÊNCIAS

CASTIGLIONI, S.; DAVOLI, E.; RIVA, F.; PALMIOTTO, M.; CAMPORINI, P.; MANENTI, A.; ZUCCATO, E. Mass balance of emerging contaminants in the water cycle of a highly urbanized and industrialized area of Italy. **Water Research**, v. 131, p. 287-298, 2018.



FERNANDES, A. C. Aplicação dos processos eletroquímicos oxidativos avançados (PEOAs) no tratamento de efluentes farmacêuticos utilizando ânodo de DDB. 2021. Disponível em:
https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/33207/1/AplicacaoProcessosEletroquimico s_Fernandes_2021.pdf. Acesso em: 08 ago. 2023.

GAFFNEY, V. J.; ALMEIDA, C. M. M.; RODRIGUES, A.; FERREIRA, E.; BENOLIEL, M. J.; CARDOSO, V. V. Ocorrência de produtos farmacêuticos em um sistema de abastecimento de água e avaliação de risco à saúde humana relacionada. **Pesquisa de água**, v.72, p.199-208, 2015.

GAFFNEY, V. J.; CARDOSO, V. V.; RODRIGUES, A.; FERREIRA, E.; BENOLIEL, M. J.; ALMEIDA, C. M. M. Análise de fármacos em águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS. **Química Nova**, 37(1), p. 138–149, 2014.

GARCÍA-GIL, A.; SCHNEIDER, E. G; MEJÍAS, M.; BARCELÓ, D.; VÁZQUEZSUÑÉ, E.; DÍAZ-CRUZ, S. Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in the urban aquifer of Zaragoza (Spain) and its relationship with intensive shallow geothermal energy exploitation. **Journal of Hydrology**, v. 566, p. 629-642, 2018.

MAJIDANO, S.A.; KHUHAWAR, M.Y. GC Determination of Famotidine, Ranitidine, Cimetidine, and Metformin in Pharmaceutical Preparations and Serum Using Methylglyoxal as Derivatizing Reagent. **Chromatographia**, V. 75, p. 1311–1317, 2012.

SILVA, V. W. P. da.; FIGUEIRA, K. L.; SILVA, F. G. da.; ZAGUI, G. S.; Meschede, M. S. C. Descarte de medicamentos e os impactos ambientais: uma revisão integrativa da literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, 28(4), p. 1113–1123, 2023.

SKRZYPEK S., MIRCESKI V., CIESIELSKI W., SOKOLOWSKI A., ZAKRZEWSKI R. Direct determination of metformin in urine by adsorptive catalytic square-wave voltammetry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, n.2, p. 275-281, 2007.

SWALES, J.G.; GALLAGHER, R.T.; DENN, M.; PETER, R.M. Simultaneous quantitation of metformin and sitagliptin from mouse and human dried blood spots using laser diode thermal desorption tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 3, p. 544-551, 2011.

TEIXEIRA, R. C. Metformina: revisão dos usos clínicos e potencial para tratamento da Pré-eclâmpsia. **Repositório completo**, 2020. Disponível em:
<https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/36305/1/REPOSIT%C3%93RIO%20COMPLETO.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2023

TELES, J. Os 10 medicamentos mais vendidos nas farmácias brasileiras. **Abcfarma**, 2022. Disponível em: <https://site.abcfarma.org.br/os-10-medicamentos-mais-vendidos-nas-farmacias-brasileiras/>. Acesso em: 08 ago. 2023.

TOBAR, N.; ROCHA, G. Z.; SANTOS, A.; SAAD, M. J. A metformina atua no intestino e induz o crosstalk intestino-fígado. **Ciências Médicas**, n.4, vol.120, 2023.