

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

RENATA MARTINS CARDOSO

**TRIAGEM DE FÁRMACOS E METABÓLITOS EM EFLUENTE
HOSPITALAR ASSOCIADA À SOBRECLASSIFICAÇÃO PELO RISCO
AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA UTILIZANDO MÉTODO *ELECTRE***

Porto Alegre,
2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

RENATA MARTINS CARDOSO

**TRIAGEM DE FÁRMACOS E METABÓLITOS EM EFLUENTE
HOSPITALAR ASSOCIADA À SOBRECLASSIFICAÇÃO PELO RISCO
AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA UTILIZANDO MÉTODO *ELECTRE***

Dissertação apresentada como
requisito parcial para a obtenção do
grau de Mestra em Química

Profa. Dra. Carla Sirtori

Orientadora

Dr. Alessandro Dallegrave

Coorientador

Porto Alegre,
2022

CIP - Catalogação na Publicação

Cardoso, Renata Martins

Triagem de fármacos e metabólitos em efluente hospitalar associada à sobreclassificação pelo risco ambiental e à saúde humana utilizando método ELECTRE / Renata Martins Cardoso. -- 2022.

117 f.

Orientadora: Carla Sirtori.

Coorientador: Alessandro Dallegrave.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. LC-MS. 2. Triagem. 3. Fármacos e metabólitos. 4. (Q)SAR. 5. ELECTRE. I. Sirtori, Carla, orient. II. Dallegrave, Alessandro, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Felizmente não estive sozinha nesses pouco mais de 2 anos. Esse trabalho é resultado da soma de ideias. Aqui, a ciência fez-se no coletivo. Aos integrantes do GMAPS, e aqueles que por ele passaram, meu grande agradecimento. Direta ou indiretamente, o trabalho descrito nas linhas seguir, também, foi realizado por vocês.

ATIVIDADES DE PRODUÇÃO INTELECTUAL REALIZADAS DURANTE O MESTRADO

ARTIGO COMPLETO PUBLICADO RELACIONADO À DISSERTAÇÃO

Cardoso, R. M., Becker, R. W., Jachstet, L. A., Scunderlick, D., Dallegrave, A., Ruiz-Padillo, A., Sirtori, C. Qualitative evaluation of pharmaceuticals and metabolites in hospital effluent: Influence of sample preparation technique and outranking by environmental risk using the ELECTRE method. *Science of The Total Environment*, 2022, 834, 155119. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155119>.

ARTIGOS ORIUNDOS DE OUTROS TRABALHOS OU QUE FORAM DESENVOLVIDOS EM COLABORAÇÃO

Cardoso, R. M., Dallegrave, A., Becker, R. W., Araújo, D. S., Sirtori, C. Economically feasible strategy for confirmation of pharmaceuticals in hospital effluent using screening analysis. *Analytical Methods*, 2020, 12 (38), 4691–4697. <https://doi.org/10.1039/d0ay01397h>.

Cuervo Lumbaque, E., **Cardoso, R. M.**, Gomes, A. A., Malato, S., Sánchez-Pérez, J. A., Sirtori, C. Removal of pharmaceuticals in hospital wastewater by solar photo-Fenton with Fe³⁺-EDDS using a pilot raceway pond reactor: transformation products and *in silico* toxicity assessment. *Microchemical Journal*, 2021, 164, 106014, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106014>.

TRABALHO APRESENTADO EM EVENTO CIENTÍFICO DA ÁREA

R. M. Cardoso, A. Dallegrave, R. W. Becker, C. Sirtori. Triagem de fármacos em efluente hospitalar mediante o uso de LC - QTOF MS. In XIV Latin American Symposium on Environmental Analytical Chemistry, IX National Meeting on Environmental Chemistry, XII Workshop on Recent Advances on Sample Preparation and II CORSAN Seminar on Research and Innovation. Bento Gonçalves (Brasil), 2019. (Pôster).

RESUMO

A presença de fármacos e metabólitos em efluentes tornou-se um grave problema ambiental, podendo, também, impactar prejudicialmente a saúde humana. Assim sendo, é essencial o monitoramento desses microcontaminantes, bem como a avaliação dos potenciais riscos ambientais e à saúde humana que tais compostos podem apresentar. Neste sentido, neste estudo foi realizada uma análise de triagem de 2030 fármacos e metabólitos em efluente hospitalar, avaliando diferentes técnicas de preparo de amostras. Adicionalmente, uma associação pioneira do uso de ferramentas *in silico* baseadas na abordagem (quantitativa) estrutura-atividade ((*Q*)SAR), para a predição de oito parâmetros de risco, com a técnica de análise de decisão multicritério *ELECTRE* possibilitou a sobreclassificação dos analitos de acordo com seu risco ambiental e à saúde humana. A técnica de preparo de amostra que se mostrou mais vantajosa consistiu na limpeza (100 mg de sílica/alumina) associada à Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (*DLLME*) (7,5 de matriz, 600 µL de clorofórmio como solvente extrator e 1000 µL de acetonitrila como solvente dispersor), resultando na identificação de 77 analitos. A análise de triagem identificou um total de 105 microcontaminantes, sendo 28 deles “compostos confirmados” e 77 sendo “compostos suspeitos”. Desses compostos, 89% eram fármacos e 11% metabólitos. Os compostos identificados foram posteriormente avaliados por predições *in silico*, usando diferentes programas de livre acesso, considerando oito parâmetros: mobilidade, persistência, ligação ao receptor de estrogênio, remoção total em estação de tratamento de efluentes, biodegradabilidade, PBT (persistência, bioacumulação e toxicidade), mutagenicidade e carcinogenicidade. Os resultados quantificados das predições realizadas por ferramentas *in silico* baseadas na abordagem (*Q*)SAR foram usados como dados de entrada para o método de sobreclassificação *ELECTRE*. A categorização dos compostos através do *ELECTRE* resultou no *kernel* (compostos prioritários) e mais 19 grupos. A avaliação da sensibilidade do *ELECTRE* indicou que, para todos os casos, o *kernel* e os dois grupos seguintes coincidiram. Assim, o método *ELECTRE* constitui uma ferramenta de decisão altamente intuitiva, que pode auxiliar na seleção de compostos para inclusão em programas de monitoramento ambiental.

Palavras-chave: LC-MS; triagem; fármacos e metabólitos; (*Q*)SAR; método de análise de decisão multicritério.

ABSTRACT

The presence of pharmaceuticals and metabolites in effluents has become a serious environmental problem and can also have a harmful impact on human health. Therefore, it is essential to monitor these microcontaminants, as well as to assess the potential environmental and human health risks that such compounds may present. In this sense, in this study, a screening analysis of 2030 pharmaceuticals and metabolites in hospital effluent was performed, evaluating different sample preparation techniques. Additionally, a pioneer association of the use of *in silico* tools to assess the (quantitative) structure-activity relationship ((Q)SAR), for the prediction of eight risk parameters, with the ELECTRE multicriteria decision analysis technique, it was possible to overclassify the analytes according to their environmental and human health risk. The sample preparation technique that proved to be the most advantageous consisted of cleaning (100 mg of silica/alumina) associated with Dispersive Liquid-Liquid Microextraction (DLLME) (7.5 matrix, 600 μ L of chloroform as extracting solvent and 1000 μ L of acetonitrile as dispersing solvent), resulting in the identification of 77 analytes. The screening analysis identified a total of 105 microcontaminants, with 28 of them being “confirmed compounds” and 77 being “suspect compounds”. Of these compounds, 89% were pharmaceuticals and 11% were metabolites. The identified compounds were further evaluated by *in silico* predictions, using different open access programs, considering eight endpoints: mobility, persistence, estrogen receptor binding, total removal in wastewater treatment plant, biodegradability, PBT (persistence, bioaccumulation and toxicity), mutagenicity and carcinogenicity. The quantified results of predictions made by *in silico* tools based on the (Q)SAR approach were used as input data for the ELECTRE overclassification method. The categorization of compounds through ELECTRE resulted in the kernel (priority compounds) and 19 more groups. The ELECTRE sensitivity assessment indicated that, for all cases, the kernel and the following two groups coincided. Thus, the ELECTRE method constitutes a highly intuitive decision tool, which can assist in the selection of compounds for inclusion in environmental monitoring programs.

Keywords: LC-MS; screening; pharmaceuticals and metabolites; (Q)SAR; multicriteria decision analysis method.

ÍNDICE

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	18
2.1. OBJETIVO GERAL	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3. REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1. FÁRMACOS E METABÓLITOS NO MEIO AMBIENTE	19
3.1.1 DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E METABÓLITOS	24
3.1.1.1 PREPARO DE AMOSTRA	25
3.1.1.2 ANÁLISE INSTRUMENTAL	27
3.2 AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA UTILIZANDO PREDIÇÕES <i>IN SILICO</i>	29
3.3 ANÁLISE MULTICRITÉRIO PARA TOMADA DE DECISÃO EM AVALIAÇÕES DE RISCO AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA	32
3.3.1 MÉTODO <i>ELECTRE</i>	32
4. METODOLOGIA	34
4.1 MATERIAIS E REAGENTES	34
4.2 AMOSTRAGEM	34
4.3 PREPARO DE AMOSTRA	35
4.4 ANÁLISE INSTRUMENTAL	37
4.5 TRIAGEM DE FÁRMACOS E METABÓLITOS	38
4.6 PREDIÇÕES BASEADAS NA <i>(Q)SAR</i>	39
4.7 MÉTODO <i>ELECTRE</i> PARA ANÁLISE MULTICRITÉRIO DE SOBRECCLASSIFICAÇÃO DE FÁRMACOS E METABÓLITOS DE ACORDO COM RISCO AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS E METABÓLITOS EM EFLUENTE HOSPITALAR ...	45

5.2 ABORDAGENS (Q)SAR NA AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA DE FÁRMACOS E METABÓLITOS	54
5.3 SOBRECLASSIFICAÇÃO DE FÁRMACOS E METABÓLITOS IDENTIFICADOS POR TRIAGEM UTILIZANDO O MÉTODO <i>ELECTRE</i>	61
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
APÊNDICES.....	87

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama simplificado do processo de *DLLME*. Adaptado de Martins et al., (2012). 27
- Figura 2.** Número de compostos identificados na análise de triagem para as diferentes técnicas de preparo de amostras testadas..... 46
- Figura 3.** Procedimento de preparo de amostras 3B: (A) adição de sorventes ao efluente hospitalar; (B) agitação por vórtex; (C) centrifugação; (D) remoção de uma alíquota de 7,5 mL; (E) adição dos solventes de extração e dispersão; (F) centrifugação; (G) coleta da fase inferior; (H) secagem da amostra sob fluxo de N₂ em banho-maria; (I) reconstituição da amostra com H₂O:MeOH (90:10); (J) filtragem da amostra através de um filtro *PVDF* de 0,22 µm; (K) análise usando *LC-QTOF MS*. 47
- Figura 4.** Subclassificação dos fármacos e metabólitos identificados na análise de triagem. 48
- Figura 5.** Predições baseadas na (*Q*)SAR para os compostos identificados: (A) biodegradabilidade, (B) persistência, (C) mobilidade e (D) PBT. Os limites vermelho, amarelo e verde representam a classificação de cada parâmetro: maior preocupação (vermelho), menor preocupação (verde). 60
- Figura 6.** Representação do *kernel* e dos três primeiros grupos. Abreviaturas: metoclopramida (MTP), 2-hidroxicarbamazepina (2-HC), 17-alfa-estradiol (17-AE), fenacetina (FNT), ciclofosfamida (CFM), desvenlafaxina (DVF), metronidazol (MTD), trimetoprim (TMP), testosterona (TTN), primidona (PDN), ciprofloxacina (CPX), 4-formilaminoantipirina (4-FM), 19-nortestosterona (19-NT). 61
- Figura 7.** Comparação dos agrupamentos obtidos para os três conjuntos de pesos usados no teste de sensibilidade (peso original: 1, 2 e 3; peso -0,5: 0,5, 1,5 e 2,5; peso +1: 2, 3 e 4), para o *kernel* e os primeiros quatro grupos *ELECTRE*. 67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fármacos mais comumente encontrados no meio ambiente. Adaptado de Silori & Tauseef, (2022).....	21
Tabela 2. Massas de adsorventes avaliadas nos métodos 3A, 3B e 3C.....	36
Tabela 3. Resumo das técnicas de preparação de amostras.....	37
Tabela 4. Programas de predição de parâmetros de risco baseados na (Q)SAR. Tabela adaptada de Becker et al., (2021).	39
Tabela 5. Pesos utilizados para cada parâmetro no método <i>ELECTRE</i> e teste de sensibilidade.	44
Tabela 6. Análise de custo e de demanda temporal para a execução do método de preparo de amostra 1 (<i>SPE</i>) e do método 3B (limpeza + <i>DLLME</i>).....	47
Tabela 7. Classificação e subclassificação de fármacos e metabólitos identificados na análise de triagem.	49
Tabela 8. Categorização dos compostos analisados em grupos, de acordo com os resultados do <i>ELECTRE</i>	64

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A. Resultados da análise de triagem para as diferentes técnicas de preparação das amostras testadas (Parte 1). Onde: “c” = confirmado; “s” = suspeito; “-” = não identificado.	88
APÊNDICE B. Resultados da análise de triagem para as diferentes técnicas de preparação das amostras testadas (Parte 2). Onde: “c” = confirmado; “s” = suspeito; “-” = não identificado.	93
APÊNDICE C. Resultados baseados na (Q)SAR para os fármacos e metabólitos identificados na análise de triagem (Parte 1).	98
APÊNDICE D. Resultados baseados na (Q)SAR para os fármacos e metabólitos identificados na análise de triagem (Parte 2).....	106
APÊNDICE E. Agrupamento <i>ELECTRE</i> para teste de sensibilidade.....	114
APÊNDICE F. Resultados do teste de <i>Friedman</i> para o teste de sensibilidade.....	117

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

17-AE	17-Alfa-estradiol
19-NT	19-Nortestosterona
2-HC	2-Hidroxicarbamazepina
4-FM	4-Formilaminoantipirina
ACN	Acetonitrila
AINEs	Anti-inflamatórios não-esteroidais
ANA	Agência Nacional de Águas
AOPs	<i>Advanced Oxidation Processes</i>
<i>bbCID</i>	<i>Broadband Collision Induced Ionization</i>
CFM	Ciclofosfamida
CPX	Ciprofloxacina
<i>DBE</i>	<i>Double Bond Equivalent</i>
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
<i>DLLME</i>	<i>Dispersive Liquid-Liquid Micro Extraction</i>
DVF	Desvenlafaxina
DQO	Demanda Química de Oxigênio
<i>ELECTRE</i>	<i>ELimination Et Choix Traduisant Réalité</i>
<i>ESI</i>	<i>Eletronspray Ionization</i>
ETEs	Estações de Tratamento de Esgotos
<i>FNT</i>	<i>Fenacetina</i>
<i>HRMS</i>	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
<i>LC</i>	<i>Liquid Chromatography</i>
<i>LC - HRMS</i>	<i>Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry</i>
<i>LC - MS</i>	<i>Liquid Chromatography - Mass Spectrometry</i>
<i>LC-QTOF MS</i>	<i>Liquid Chromatography - Quadrupole Time-Of Flight Mass Spectrometry</i>
<i>LLE</i>	<i>Liquid-Liquid Extraction</i>
<i>MCDA</i>	<i>Multicriteria Decision Analysis</i>
<i>MS</i>	<i>Mass Spectrometry</i>
MTD	Metronidazol
MTP	Metoclopramida
<i>NTP</i>	<i>National Toxicology Program</i>
PBT	Persistência, Bioacumulação e Toxicidade
PDN	Primidona
<i>PVDF</i>	<i>Polyvinylidene Fluoride</i>
<i>(Q)SAR</i>	<i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>
<i>QTOF</i>	<i>Quadrupole-Time Of Flight</i>
<i>SMILES</i>	<i>Simplified Molecular-Input Line-Entry System</i>
<i>SPE</i>	<i>Solid Phase Extraction</i>
<i>SPME</i>	<i>Solid Phase Micro Extraction</i>
TMP	Trimetoprim

TTN
USEPA

Testosterona
United States Environmental Protection Agency

1. INTRODUÇÃO

A presença de fármacos e metabólitos em efluentes tornou-se um grave problema ambiental, podendo, também, impactar prejudicialmente a saúde humana (Montagner et al., 2017). O elevado número de novos medicamentos disponíveis comercialmente nos últimos anos, associado ao aumento no consumo, são dois dos inúmeros fatores que contribuem significativamente para a contaminação do meio ambiente por estes compostos (aus der Beek et al., 2016). Além disso, a baixa eficiência de remoção de fármacos e metabólitos em sistemas convencionais de tratamento de efluentes (Daughton, 2013) favorece a identificação da presença desses microcontaminantes em ambientes aquáticos (Ibáñez et al., 2021; Picó et al., 2021; Wang et al., 2021).

No que concerne a problemática ambiental, o efluente hospitalar é considerado uma das matrizes aquosas de maior complexidade devido à sua composição e características. Neste sentido, a etapa de preparo de amostras é essencial para reduzir interferências da matriz e concentrar os analitos de interesse, a fim de possibilitar a identificação por métodos instrumentais (Schriks et al., 2010). A extração em fase sólida (do inglês, *Solid Phase Extraction (SPE)*) é a técnica de preparo de amostras mais utilizada para a extração e pré-concentração de fármacos e metabólitos presentes em matrizes ambientais (Campos-Mañas et al., 2020; Senta et al., 2019). No entanto, nos últimos anos, os métodos clássicos de preparo de amostras têm sido cada vez mais substituídos por técnicas miniaturizadas que podem oferecer como benefícios: baixo custo, alta eficiência e uso de quantidades reduzidas de solventes (Amaral, 2018). Dentre essas técnicas está a microextração líquido-líquido dispersiva (do inglês, *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction (DLLME)*), baseada na partição dos analitos de interesse utilizando pequenos volumes de uma mistura de solventes (dispersor e extrator). As principais características atrativas da *DLLME* são a miniaturização, baixo custo, frequência analítica, alta eficiência de extração e pré-concentração (Martins et al., 2012). Bons resultados foram alcançados para diferentes analitos usando a técnica *DLLME*, às vezes, também, em combinação com outras etapas e/ou métodos de preparação de amostras (Chen et al., 2012; Yan et al., 2011).

Em relação às técnicas instrumentais, estudos atuais descrevem, majoritariamente, o uso de cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massa de alta resolução (do inglês, *liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry*

(*LC-HRMS*) para a identificação de fármacos e metabólitos em amostras ambientais (Čelić et al., 2021; Ibáñez et al., 2021; Park et al., 2021; Wang et al., 2021). Esta é uma técnica robusta, específica e sensível. Além disso, a *LC-HRMS* permite a identificação de compostos mesmo quando um padrão de referência não está disponível (Čelić et al., 2021; Hernández et al., 2019a; Hernández et al., 2019b; Hernández et al., 2011), como no caso de análises de compostos suspeitos (Hernández et al., 2015).

Com a crescente diversidade de fármacos e metabólitos presentes em matrizes de interesse ambiental, o uso de metodologias de triagem torna-se essencial. Adicionalmente, essa metodologia permite a avaliação da presença de milhares de compostos em uma mesma análise, possibilitando uma seleção mais assertiva de analitos para posterior desenvolvimento bem-sucedido de uma metodologia de análise quantitativa. Em análises de triagem de compostos suspeitos, a disponibilidade de padrões analíticos não é um pré-requisito indispensável, uma vez que informações valiosas sobre exatidão de massa, distribuição isotópica e fragmentações características dos compostos podem ser encontradas na literatura ou em bancos de dados de espectrometria de massa de livre acesso. Dentre estes, pode-se destacar o *mzCloud* e *MassBank* (Bade, 2016; Cardoso et al., 2020; Ibáñez et al., 2017; Becker et al., 2020a). Quando os padrões analíticos estão disponíveis, os compostos podem ter sua presença confirmada nas amostras em estudo, uma vez que seus tempos de retenção são conhecidos, nesse caso estamos realizando uma triagem-alvo (Papagiannaki et al., 2022).

Os efeitos a longo prazo da exposição contínua a baixos níveis de diversos fármacos e metabólitos não são totalmente conhecidos, portanto, as avaliações de risco envolvem o uso de estimativas sobre os impactos nos ecossistemas ambientais e na saúde humana. Métodos de modelagem computacional (*in silico*) baseados na abordagem (quantitativa) de relação estrutura-atividade (do inglês, (*quantitative*) *structure-activity relationship* (*Q*)*SAR*) são ferramentas úteis para auxiliar em avaliações de risco (Mansour et al., 2020; Thomas et al., 2019). Os ensaios preditivos *in silico*, geralmente, são mais rápidos e baratos do que os ensaios *in vivo* e *in vitro*. A modelagem (*Q*)*SAR* é baseada no conceito de que a estrutura química de uma substância determina suas propriedades físicas, químicas e biológicas (Abramenko et al., 2020). Assim, a partir da estrutura molecular do composto e utilizando programas computacionais de livre acesso, é possível obter informações de avaliação de risco, quando não há dados experimentais (Sangion et al., 2016).

No entanto, quando muitas moléculas diferentes são avaliadas usando abordagens (Q)SAR, um grande volume de dados é gerado, tornando a análise dos dados difícil e demorada. Portanto, estratégias alternativas para a análise desses resultados precisam ser exploradas, a fim de subsidiar a tomada de decisão na gestão ambiental, de acordo com a avaliação de risco. Uma abordagem inovadora é a utilização de ferramentas de análise de decisão multicritério (do inglês, *Multicriteria Decision Analysis (MCDA)*) para priorização, classificação e categorização de compostos de acordo com parâmetros definidos (Pomerol et al., 2000; Ruiz-Padillo et al., 2016). A aplicação de métodos multicritério na análise de dados, associada às predições *in silico* usando diferentes parâmetros permite modelar os compostos identificados como alternativas e os parâmetros como critérios, a fim de selecionar os analitos que apresentam o maior risco ambiental e à saúde humana (Becker, et al., 2021). Um desses métodos multicritério é o *ELECTRE* (do francês, *ELimination Et Choix Traduisant REalité*), pertencente à família de técnicas de sobreclassificação, que se baseia na construção de uma relação de superação que incorpora as preferências estabelecidas pelo tomador de decisão, considerando os critérios avaliados e as alternativas disponíveis (Alvarez et al., 2021).

A ferramenta *ELECTRE* tem sido aplicada de maneira crescente em trabalhos científicos nos últimos anos. De acordo com a base de dados *Science Direct*, entre 2018 e 2022 foram publicados cerca de 1800 artigos científicos os quais aplicaram com sucesso o método *ELECTRE* para diferentes finalidades e áreas de atuação, tais como: tecnologia da informação; recursos naturais e gestão ambiental; agricultura; saúde; educação; construção; engenharia de transportes; gerenciamento de energia e água, dentre outros (Azhar et al., 2021; Pelissari et al., 2021). No entanto, quando a busca por trabalhos científicos é restringida aos termos em inglês: “*environmental risk assessment, pharmaceuticals and ELECTRE*”, somente um trabalho científico é encontrado: o artigo que deu origem a esta dissertação (Cardoso et al., 2022). O número inexistente de trabalhos com esse tema e abordagem corrobora a importância e inovação deste estudo.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desse estudo foi a realização de uma análise de triagem de fármacos e metabólitos em amostra composta de efluente hospitalar, avaliando o uso de diferentes técnicas de preparo de amostras. Além disso, após a triagem de compostos, objetivou-se a realização de uma associação pioneira do uso de ferramentas *in silico* baseadas na abordagem (*Q*)*SAR*, para a predição de parâmetros de risco, com a técnica de análise de decisão multicritério *ELECTRE*, que permitiu a sobreclassificação dos compostos identificados de acordo com seu risco ambiental e à saúde humana.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliação da técnica de preparo de amostra mais adequada, dentre as testadas, para a extração e pré-concentração dos analitos e para a limpeza da matriz de efluente hospitalar;
- Desenvolvimento de uma base de dados que permitisse a triagem automatizada de fármacos e metabólitos na matriz em estudo;
- Realização de uma análise de triagem de fármacos e metabólitos em matriz de efluente hospitalar mediante o uso de *LC-QTOF MS*;
- Predição, para os compostos identificados, mediante uso de abordagens *Q(SAR)*, de oito parâmetros: mobilidade, persistência, ligação ao receptor de estrogênio, remoção total em Estação de Tratamento de Efluentes (ETEs), biodegradabilidade, PBT (persistência, bioacumulação e toxicidade), mutagenicidade e carcinogenicidade.
- Sobreclassificação dos fármacos e metabólitos identificados na triagem, a partir dos parâmetros preditos quantitativamente, pelo ponto de vista do risco ambiental e à saúde humana, fazendo uso do método *ELECTRE*.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. FÁRMACOS E METABÓLITOS NO MEIO AMBIENTE

O crescente número de estudos acerca do impacto ambiental de fármacos e metabólitos tem demonstrado uma crescente preocupação com o destino ambiental desses compostos devido à potencialidade desses como microcontaminantes ambientais (Freitas et al., 2021; Gworek et al., 2020; Silori et al., 2021; Ziylan-Yavas et al., 2022).

Os fármacos constituem um grupo numeroso e heterogêneo de compostos, os quais são utilizados e lançados no meio ambiente em quantidades cada vez maiores. O crescente aumento do consumo de fármacos, nesse sentido, é a principal explicação da frequente introdução destes microcontaminantes nos diferentes compartimentos ambientais (aus der Beek et al., 2016). No Brasil, soma-se, ainda, a inexistência ou ineficiência dos processos de tratamento de efluentes que aumentam a frequência dos microcontaminantes no meio ambiente (Montagner, 2011). Segundo o Atlas Esgotos, documento oficial da Agência Nacional de Águas (ANA), em 2017 somente metade da população brasileira possuía acesso à coleta e tratamento adequado de esgoto. Ainda, cerca de 27% da população não era atendida por nenhum serviço sanitário (Brasil, 2017).

Apesar desses microcontaminantes serem comumente encontrados em baixas concentrações em ambientes aquáticos, na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} (Ebele et al., 2017), diversos estudos demonstram a ocorrência e persistência de uma vasta gama destes compostos no meio ambiente (González-González et al., 2022; Gworek et al., 2020; Korkmaz et al., 2022; Omotola et al., 2022; Silori & Tauseef, 2022). A preocupação com o impacto desses microcontaminantes no meio ambiente é de extrema relevância, embora os fármacos desempenhem um importante papel no tratamento e/ou prevenção de inúmeras patologias, podem induzir efeitos indesejados sobre organismos não alvo (Celiz et al., 2009; Ziylan et al., 2011). Além disso, mesmo baixas concentrações desses compostos já são suficientes para que possíveis efeitos adversos sejam causados ao ecossistema aquático. Ainda, é reconhecido que a combinação de concentrações de fármacos que possuem um efeito comum pode levar a efeitos sinérgicos, com isso, surge a crescente demanda de informações sobre a toxicidade de fármacos e seus metabólitos de forma associada e não de forma isolada (Montagner et al., 2017).

Após a administração dos fármacos, esses podem ser excretados em suas formas originais, conjugadas ou como metabólitos (Tambosi, 2008). Assim, é necessário

ter atenção não somente ao impacto dos fármacos no meio ambiente, mas também dos seus metabolitos, uma vez que alguns metabolitos podem ser potencialmente mais tóxicos para o meio ambiente e para a saúde humana do que os respectivos compostos originais (Montagner et al., 2017). Contudo, os metabolitos e fármacos em sua forma conjugada raramente são considerados nos estudos para avaliação do risco humana e toxicidade ambiental.

Os fármacos, bem como os seus metabolitos, são lançados para o meio ambiente, adentrando, assim, nos mais diversos ecossistemas através de vias distintas. As ETEs configuram-se como fonte emissora desses microcontaminantes para o ambiente aquático, uma vez que os tratamentos convencionalmente utilizados não são capazes de removê-los totalmente (Daughton, 2007). Eles, ainda, podem ser introduzidos através dos efluentes de indústrias farmacêuticas, pelo descarte inadequado de produtos não utilizados ou vencidos e, principalmente, através dos efluentes hospitalares, os quais são, comumente, lançados nas redes de esgoto sem nenhum tratamento prévio (Melo et al., 2009).

Destaca-se, ainda, que o uso excessivo e crescente de antibióticos para tratamento de infecções favorece a ampla disseminação de resistência bacteriana nos seres humanos, animais e no meio ambiente. A ocorrência de bactérias e genes resistentes a antibióticos tem sido frequentemente observada em águas residuais, água potável tratada, águas superficiais, solo e até mesmo no ar (Yuan et al., 2015). Adicionalmente, Michael et al., (2013) corroboram que as ETEs estão entre as principais fontes de liberação de antibióticos aos vários compartimentos ambientais em todo o mundo. Segundo os autores, a eficiência de remoção dos antibióticos durante o tratamento de águas residuais é influenciada pelas propriedades físicas e químicas dos antibióticos e pela natureza e condições de operação dos sistemas de tratamento. Concluem, dessa forma, que a aplicação de técnicas alternativas de tratamento tais como os processos de membrana, adsorção com carvão ativado, processos avançados de oxidação (do inglês, *Advanced Oxidation Processes (AOPs)*) e combinações entre estes, pode levar a maiores taxas de remoção dos antibióticos nos efluentes.

De acordo com Verlicchi, (2021), o debate sobre o tratamento mais adequado para a matriz de efluente hospitalar é contínuo e constantemente alimentado por novos *insights*. Dentre as áreas que requerem pesquisas urgentes, a autora destaca: a redução da ocorrência de genes resistentes a antibióticos, bactérias resistentes a antibióticos e patógenos.

As águas residuais hospitalares são constituídas por uma variedade de substâncias químicas de caráter persistente e compostas por misturas complexas de matéria orgânica, detergentes, surfactantes, antissépticos, solventes, medicamentos (com especial interesse aos antibióticos) e substâncias radioativas (Kovalova et al., 2013; Stieber et al., 2011; Verlicchi et al., 2010). Em muitos países, incluindo o Brasil, os efluentes hospitalares são equiparados aos efluentes urbanos. Sendo assim, são lançados diretamente nas redes de esgoto e, posteriormente, quando há possibilidade, são tratados nas estações de tratamento de efluentes juntamente com as demais águas residuais (Zavala et al., 2015; Verlicchi et al., 2010). A descarga direta destes efluentes em sistemas de esgotos urbanos sem tratamento preliminar pode constituir um risco potencial para o meio ambiente e à saúde humana, uma vez que as estações de tratamento de efluentes convencionais não são capazes de remover totalmente esses microcontaminantes, pois essas não foram essencialmente concebidas para esse fim específico (Suarez et al., 2009).

À vista disso, diversos estudos mencionam a ampla ocorrência de fármacos e metabólitos em matrizes aquosas brasileiras, incluindo efluentes hospitalares (Cardoso et al., 2020; de Almeida et al., 2015; Mzukisi et al., 2020; Souza et al., 2018; Souza et al., 2016; Becker et al., 2020a, 2021). Dentre as várias classes de fármacos existentes, as mais abordadas em publicações científicas estão mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Fármacos mais comumente encontrados no meio ambiente. Adaptado de Silori & Tauseef, (2022).

Classe terapêutica	Composto
Analgésicos/Antipiréticos/Anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs)	Acetaminofeno
	Ácido meclofenâmico
	Ácido mefenâmico
	Ácido salicílico
	Aspirina
	Cetoprofeno
	Codeína
	Diclofenaco
	Ibuprofeno
	Metamizol
	Naproxeno
	Nimesulida
	Oxicodona
Tramadol	

Classe terapêutica	Composto
Antibióticos	Amoxicilina
	Ampicilina
	Azitromicina
	Cefalexina
	Ciprofloxacino
	Doxiciclina
	Enoxacina
	Enrofloxacina
	Eritromicina
	Lincomicina
	Norfloxacina
	Ofloxacina
	Oxitetraciclina
	Penicilina G
Antibióticos	Sulfadiazina
	Sulfaguanidina
	Sulfametazina
	Sulfametoxazol
	Sulfapiridina
	Sulfatiazol
	Trimetoprim
β-Bloqueadores	Atenolol
	Metoprolol
	Propranolol
	Sotalol
Reguladores lipídicos	Bezafibrato
	Genfibrozila
	Sinvastatina
Antiepiléticos	Carbamazepina
	Fenitoína
	Gabapentina
	Lamotrigina
Antidepressivos	Citalopram
	Desvenlafaxina
	Fluoxetina
	Venlafaxina
Anti-histamínicos	Cetirizina
	Fexofenadina
Estimulante	Anfetamina
	Cafeína

Classe terapêutica	Composto
Estrogênio	17- α -Ethinilestradiol 17- β -estradiol
Diurético	Furosemida Hidroclorotiazida
Antagonista	Cimetidina Irbesartana Losartana Terbinafina Valsartana
Relaxante muscular	Carisoprodol Metaxalona
Antifúngico	Clotrimazol Terbinafina
Antirretroviral	Aciclovir Darunavir Efavirenz Lamivudina Lopinavir Nevirapina Ritonavir Zidovudina
Biguanides	Metformina
Tranquilizantes	Flunitrazepam Meprobamato
Metabólitos/ Produtos de degradação	10,11-Epóxi carbamazepina (Carbamazepina) 10,11-trans-diol-carbamazepina (Carbamazepina) 4'-Hidroxi diclofenaco (Diclofenaco) Ácido Clofíbrico (Clofibrato) Ácido Penilóico (Pencilina G) Guanilureia (Metformina) Hidroxi ibuprofeno (Ibuprofeno) N-acetil-4-aminoantipirina (Metamizol) N-formil-4-amino-antipirina (Metamizol) O-Desmetiltramadol (Tramadol) O-Desmetilvenlafaxina (Venlafaxina) Para-xantina (cafeína)

No Brasil, não há normas ou leis específicas que estabeleçam o monitoramento regular e/ou limites máximos permitidos de fármacos e metabólitos no ambiente

aquático. Os fatores avaliados para determinação da qualidade de águas, segundo Resoluções e Portarias vigentes, incluem uma variedade de compostos químicos, algas, microrganismos e alguns parâmetros físicos e químicos (Demanda Química de Oxigênio (DQO); Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), dentre outros). Dentre as substâncias orgânicas as quais apresentam limites máximos permitidos encontram-se alguns agrotóxicos e solventes orgânicos, no entanto, os microcontaminantes emergentes não são legislados (Cunha et al., 2009).

Por sua vez, a União Europeia incorporou em sua Lista de substâncias sujeitas à vigilância no âmbito da política de águas (Diretiva 2008/105/CE (Comissão Europeia, 2008)), no ano de 2018, os antibióticos amoxicilina e ciprofloxacina. Nessa mesma decisão (Decisão de Execução 2018/840/CE (Comissão Europeia, 2018)) indicou a importância de manter na lista de observação os antibióticos macrólidos (azitromicina, claritromicina e eritromicina). Adicionalmente, em 2020 (Diretiva 2020/1161/CE (Comissão Europeia, 2020)) foram incluídos na lista de observação os antibióticos: sulfametoxazol e trimetoprim; o antidepressivo venlafaxina e seu metabólito O-desmetilvenlafaxina; e três fármacos azólicos: clotrimazol, fluconazol e miconazol. Assim, tendo por base o mecanismo introduzido pela Diretiva 2013/39/CE (Comissão Europeia, 2013), a lista de vigilância visa avaliar melhor os riscos dos produtos químicos encontrados nas águas superficiais. Ademais, os Estados-Membros devem monitorar estas substâncias pelo menos uma vez por ano durante um período máximo de quatro anos.

Nesse sentido, baseando-se nas premissas existentes nas principais normas que regem a qualidade da água no território brasileiro e a partir de estudos desenvolvidos em vários países, assim como no Brasil, sobre os potenciais efeitos de fármacos e metabólitos em organismos aquáticos e a saúde humana (Kaiyiwa et al., 2022; Korkmaz et al., 2022), além do monitoramento destas substâncias nos corpos hídricos em algumas regiões do Brasil (Becker et al., 2020a, 2021; Cardoso et al., 2020; Souza et al., 2018; Souza et al., 2016), espera-se que, no futuro, tais substâncias possam vir a ser contempladas nas legislações existentes ou, então, em normas específicas.

3.1.1 DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E METABÓLITOS

O crescimento no número de estudos relacionados à determinação de fármacos

e metabólitos no meio ambiente está diretamente relacionado ao avanço tecnológico da instrumentação analítica, uma vez que esses microcontaminantes estão presentes nas matrizes aquosas em concentrações em nível de traços a ultra traços. Ao longo do tempo, desse modo, as ferramentas analíticas foram aperfeiçoadas, tornando-se mais sensíveis e seletivas, permitindo a detecção e quantificação em níveis cada vez menores (Lanças, 2009; Winefordner, 2009). Ademais, a água residual hospitalar é considerada uma das matrizes mais complexas, dentre as matrizes ambientais, devido a sua composição e característica (Kovalova et al., 2013; Stieber et al., 2011; Verlicchi et al., 2010). Nesse sentido, a etapa de preparo de amostra é essencial para a redução de interferências da matriz e para a concentração dos analitos a faixas detectáveis pelas técnicas analíticas disponíveis (Kole et al., 2011). A análise de fármacos compreende, no geral, as etapas de extração e pré-concentração dos analitos; eliminação de interferências (limpeza da matriz); separação, detecção/identificação e, quando possível, quantificação dos analitos.

3.1.1.1 PREPARO DE AMOSTRA

Os métodos de preparo de amostras baseiam-se no conceito de conversão de uma matriz real em uma amostra adequada para posterior análise pela técnica analítica apropriada. Pode-se alcançar isso através da remoção de interferentes da amostra, pela pré-concentração dos analitos ou pela conversão dos analitos a formas mais adequadas para a detecção ou separação, objetivando alcançar métodos robustos e reprodutíveis que sejam independentes das variações da matriz (Smith, 2003).

A etapa de preparo de amostra é de grande importância na maioria das análises químicas, mas sobretudo no caso dos fármacos e metabólitos em efluentes hospitalares, uma vez que se encontram desafios relativos à complexidade da matriz, devido à presença de interferentes, além das baixas concentrações e das diferentes propriedades físico-químicas dos analitos (Pedroso et al., 2011). A determinação destes analitos nesse tipo de matriz requer um pré-tratamento eficiente da mesma, pois caso as interferências não sejam efetivamente removidas, poderão afetar na identificação dos analitos (Caldas et al., 2011). A técnica de preparo de amostra deve visar a obtenção de resultados precisos e exatos, ser de baixo custo, simples e possibilitar miniaturização com o intuito de reduzir o uso de reagentes e solventes (Filippou et al., 2017; Hercegová et al., 2007; Jardim, 2010; Lanças, 2004; Prestes et al., 2009).

Os métodos de preparo de amostra mais empregados em análises de fármacos

e metabólitos em matrizes ambientais aquosas envolvem as técnicas de extração líquido-líquido (do inglês, *liquid-liquid extraction (LLE)*), *SPE*, microextração em fase sólida (do inglês, *solid phase microextraction (SPME)*) e, com menor frequência, *DLLME* (Caldas et al., 2011).

A *SPE* é a técnica mais utilizada para o preparo de amostras em análises de fármacos e metabólitos em matrizes aquosas devido a sua eficiência para essa finalidade. Porém, a *SPE* apresenta desvantagens como o tempo elevado de execução e os altos custos dos cartuchos comerciais disponíveis (Biziuk, 2006).

Por sua vez, a *DLLME* fundamenta-se no princípio da partição dos analitos entre duas fases líquidas imiscíveis, a fase aquosa e a fase orgânica. A solubilização dos analitos nessas fases é governada pela polaridade relativa do sistema, sendo que os analitos são geralmente apolares, apresentando maior afinidade pela fase orgânica, composta por um solvente orgânico mais apolar, em comparação com a fase aquosa, que é, por sua vez, altamente polar (Martins et al., 2012).

O processo da *DLLME* é baseado na adição rápida de uma mistura apropriada do solvente extrator e do solvente dispersor na amostra aquosa, a qual contém os analitos de interesse, por meio de uma seringa adequada, ocasionando uma vigorosa turbulência na mistura e proporcionando a formação de uma grande área de contato entre a fase aquosa e o solvente extrator. Devido a esta grande área superficial o equilíbrio é atingido rapidamente e a extração é independente do tempo, sendo esta, a principal vantagem do método. Após leve agitação, uma solução turva com microgotas é formada e os analitos são pré-concentrados no solvente extrator, que foi disperso na amostra com o auxílio do solvente dispersor. Após centrifugação, o solvente extrator é recuperado e a determinação dos analitos pode ser realizada empregando técnicas analíticas apropriadas (Caldas et al., 2010; Martins et al., 2012; Rezaee et al., 2006). A Figura 1 generaliza o processo da *DLLME*.

Ambientalmente e economicamente, a *DLLME* tem vantagens em relação a outras técnicas convencionais de extração com solvente. Dentre as vantagens, destacam-se a simplicidade de execução, o baixo tempo de operação, o menor consumo de solventes e a pré-concentração dos analitos. Ainda, a *DLLME* é frequentemente combinada com outras técnicas de extração para a sua aplicação seja estendida a matrizes mais complexas (Sajid, 2022). Dessa forma, a *DLLME* apresenta-se como uma técnica bastante apropriada para análises que visam a determinação de fármacos e metabólitos em águas residuais hospitalares.

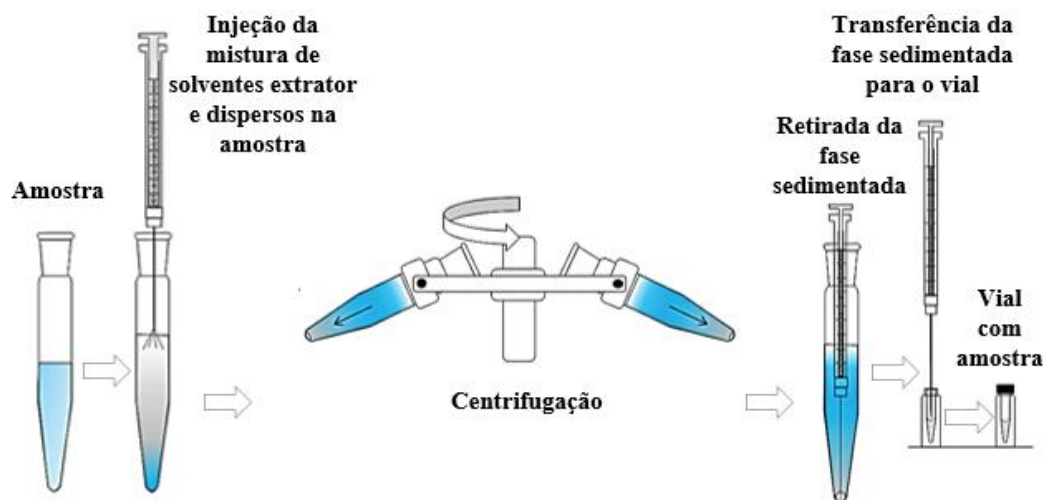


Figura 1. Diagrama simplificado do processo de *DLLME*. Adaptado de Martins et al., (2012).

3.1.1.2 ANÁLISE INSTRUMENTAL

Dentre as diferentes técnicas analíticas reportadas na literatura para a determinação de fármacos e metabólitos em matrizes aquosas, destaca-se o uso das técnicas de cromatografia a líquido e de cromatografia a gás para a separação dos analitos. A identificação e, quando possível, a quantificação dos analitos pode ser realizada através de diferentes detectores, dentre eles, o detector de ultravioleta, o detector de arranjo de diodos e o detector de fluorescência, quando se utiliza a cromatografia a líquido; o detector de captura de elétrons e o detector de ionização de chama quando se utiliza a cromatografia a gás. Por sua vez, o analisador do tipo espectrômetro de massa é o mais utilizado acoplado a ambos os tipos de cromatografia. Nesse sentido, verifica-se que a cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massa é a técnica analítica mais indicada a análise de fármacos e metabólitos em amostras aquosas complexas devido a sua versatilidade, especificidade e sensibilidade, permitindo realizar análises qualitativas e/ou quantitativas (Gumbi et al., 2022; Hameedat et al., 2022; Korkmaz et al., 2022; Madikizela et al., 2022; Omotala et al., 2022; Paszkiewicz et al., 2022)

A cromatografia a líquido (do inglês, *liquid chromatography (LC)*) é uma das mais importantes técnicas de separação, uma vez que consegue separar diversos compostos similares, sendo usada na análise de compostos menos voláteis ou que podem sofrer degradação quando submetidos a altas temperaturas, como é o caso dos fármacos e metabólitos (Leite, 2002; Snyder & Kirkland, 1979). A cromatografia a líquido de ultra

eficiência é empregada para a determinação de microcontaminantes em matrizes aquosas desde sua introdução no mercado em 2004, uma vez que é capaz de operar em altas pressões associadas a um menor tamanho de partícula da fase estacionária (diminuição da anisotropia) e menor fluxo de fase móvel. Dessa forma, apresenta vantagens na diminuição do tempo de análise; melhoria na resolução dos picos cromatográficos e detectabilidade dos analitos; economia de fase móvel; redução no volume de amostra e, conseqüentemente, menor geração de resíduos (Kumar et al., 2022).

A utilização do espectrômetro de massa possibilita um aumento na confiabilidade de detecção dos analitos, além do aumento da quantidade de informações estruturais obtidos através da aquisição de espectros com alta energia de colisão. A espectrometria de massas de alta resolução configura importante papel na identificação de compostos desconhecidos, pois permite o registro de cromatogramas no modo de varredura completa (*full-scan*) com alta exatidão de massa, tornando possível a procura seletiva baseada na massa exata. O analisador híbrido *QTOF* (do inglês, *Quadrupole-Time Of Flight*) está compreendido nessa classe (Bade, 2016; Chiaradia et al., 2008; Noguera-Oviedo & Aga, 2016).

O sistema *LC-QTOF MS* (do inglês, *Liquid Chromatography-Quadrupole-Time Of Flight Mass Spectrometry*), tem alta potencialidade para a triagem de fármacos e metabólitos, visto que o sistema cromatográfico fornece melhor sensibilidade e seletividade, minimizando as interferências de coeluição e, por sua vez, o analisador *QTOF* possibilita a alta sensibilidade, resolução e exatidão de massa (Bade, 2016).

Análises de triagem baseiam-se na pesquisa de uma série de compostos que, potencialmente podem estar presentes em uma amostra, mediante o uso de bases de dados, sendo que a seleção dos analitos a ser triados pode ser feita após a aquisição de dados. Esse tipo de estratégia de análise também é interessante, pois permite a retroanálise. Após a aquisição de dados, programas especializados extraem todas as respostas potencialmente positivas, baseadas nos parâmetros definidos previamente, na forma de cromatogramas de íons extraídos. Nos casos em que os padrões analíticos não estão disponíveis, os compostos podem ser identificados como suspeitos com base na exatidão de massa do íon molecular, com erros menores que 5 ppm, pelos fragmentos característicos e *DBE* (do inglês, *Double Bond Equivalent*). Ademais, a distribuição isotópica pode ser usada para obter maior confiança na identificação, para analitos que contenham halogênios em sua estrutura. Alternativamente, as fragmentações dos compostos podem ser pesquisadas na literatura ou em bases de dados de espectrometria

de massa. Assim, quando os padrões analíticos não estiverem disponíveis, muitas vezes devido aos seus altos custos ou indisponibilidade comercial, a identificação desses compostos pode ser tentativamente alcançada, mediante a presença de fragmentos característicos compatíveis com a literatura e a partir das características estruturais desses compostos (Bade, 2016; Chiaradia et al., 2008; Noguera-Oviedo & Aga, 2016).

Diversas publicações relatam análises de triagem para identificação de fármacos em diferentes sistemas aquáticos (Asghar et al., 2018; Becker et al., 2020a; Ibáñez, et al., 2020; Čelić et al., 2021; Hernández et al., 2015; Ibáñez et al., 2017; Paszkiewicz et al., 2022). No entanto, estudos que avaliam a ocorrência de fármacos e metabólitos em efluente hospitalar utilizando metodologia de triagem por *LC – QTOF MS*, principalmente aqui no Brasil, ainda são limitados, o que corrobora a importância deste estudo.

3.2 AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA UTILIZANDO PREDIÇÕES *IN SILICO*

A ecotoxicidade de fármacos e metabólitos, assim como os riscos à saúde humana são, atualmente, de preocupação mundial (Bertrand-Krajewski et al., 2022; Bouzas-Monroy et al., 2022; Omotola et al., 2022). Muitas dessas substâncias não foram avaliadas quanto à ecotoxicidade e à saúde humana, ou os resultados das avaliações anteriormente feitas não são conclusivos, exigindo uma constante atualização dessas informações. Inicialmente, os pilares para o estabelecimento de limites de segurança e de ações regulatórias foram as informações obtidas por avaliações *in vitro* e *in vivo* e por estudos epidemiológicos. No entanto, devido, principalmente, ao rápido desenvolvimento de novos fármacos; o grande tempo demandado, ao uso de animais e aos altos custos das avaliações toxicológicas tradicionais, ocorreu um evidente desequilíbrio entre o desenvolvimento de fármacos e as avaliações toxicológicas, com avaliação de apenas uma pequena parte dos compostos disponíveis no mercado, resultando numa utilização de fármacos com potenciais riscos ambientais e à saúde humana ainda desconhecidos (Santos & Rodrigues, 2011).

Devido a necessidade de buscar metodologias alternativas de avaliação da toxicidade e, conseqüentemente, à necessidade de avaliar-se um grande número substâncias de maneira acessível e efetiva, a *USEPA (United States Environmental Protection Agency)* e o *NTP (National Toxicology Program)* propuseram novas

estratégias para avaliação de risco com fins regulatórios. Essas estratégias incorporavam avanços em Biologia Molecular, Toxicologia Molecular, Ciências Computacionais e Tecnologia da Informação, dando origem a uma nova área da Toxicologia: a Toxicologia Computacional. A Toxicologia Computacional aplica modelos computacionais (*in silico*) e matemáticos para a predição de efeitos adversos, e, para o melhor entendimento do (s) mecanismo (s) através do (s) qual (is) uma determinada substância provoca o dano. Hoje, as ferramentas *in silico* são desenvolvidas e recomendadas, para os devidos fins, por diversas organizações reconhecidas mundialmente (Rim, 2020; Roncaglioni et al., 2013).

Os métodos de modelagem computacional baseados na abordagem (*Q*)SAR são ferramentas úteis para a avaliação de risco ambiental. As predições *in silico*, geralmente, são mais rápidos e baratos do que os ensaios *in vivo* e *in vitro*. A modelagem (*Q*)SAR é baseada no conceito de que a estrutura química de uma substância determina suas propriedades físicas, químicas e biológicas (Abramenko et al., 2020). Assim, a partir das estruturas moleculares dos fármacos e metabólitos, é possível obter informações sobre esses compostos quando não há dados experimentais (Chatterjee & Roy, 2022).

Avaliações de risco ambiental consideram os processos pelos quais os compostos podem ser movidos e transformados no meio ambiente, demandando informações tais como o tempo de permanência no ambiente (persistência), bioacumulação, mobilidade, porcentagem de remoção em ETEs, biodegradabilidade e toxicidade, por exemplo (dos Santos & Nardocci, 2019). Tais informações podem ser obtidas através do uso de ferramentas *in silico*.

A mobilidade de um fármaco ou metabólito pode ser predita pelo logaritmo do coeficiente de adsorção no solo ($\log K_{oc}$), que expressa a proporção do composto adsorvido no carbono orgânico da fase sólida em um sistema bifásico água/solo ou água/sedimento. Compostos com alto valor de $\log K_{oc}$ são mais fortemente adsorvidos ao solo/sedimento, e, conseqüentemente, possuem menor mobilidade no ambiente. Frequentemente aplicam-se modelos para a obtenção desse coeficiente, uma vez que os custos dos testes de avaliação de mobilidade são altos (Bouzas-Monroy et al., 2022; Caldwell et al., 2014; K. Khan et al., 2019; Li et al., 2020; Omotola et al., 2022).

A biodegradabilidade refere-se à degradação de um composto pela ação de um consórcio de microrganismos. Assim, fármacos e metabólitos considerados de baixa biodegradabilidade podem ser altamente persistentes no meio ambiente, sobretudo nos casos em que não há outros mecanismos abióticos suficientes para suas degradações. Modelos *BioWin* são ferramentas *in silico* úteis na predição da biodegradabilidade final

de compostos, uma vez que as predições baseiam-se em coeficientes estabelecidos para alertas moleculares. A partir dos coeficientes e da contribuição de cada agrupamento da substância, a biodegradabilidade pode ser predita (Bouzas-Monroy et al., 2022; K. Khan et al., 2019; Li et al., 2020; Omotola et al., 2022).

O percentual de remoção de uma substância em ETEs expressa a taxa de eliminação do agente através dos processos de tratamento convencionais. O indicador fornece estimativas do quanto um fármaco ou metabólito pode persistir após o tratamento, podendo alcançar rotas de exposição ambiental (Bouzas-Monroy et al., 2022; Li et al., 2020; Omotola et al., 2022).

A persistência de fármacos e metabólitos pode ser prevista através dos seus tempos de meia-vida em água. A hidrólise é um dos importantes mecanismos de degradação abiótica em meio aquoso, dependendo do pH do meio. A meia-vida (tempo necessário para redução da concentração inicialmente presente em 50%) por hidrólise indica por quanto tempo uma substância pode permanecer em corpos d'água depois de sua liberação (Caldwell et al., 2014; Khan et al., 2019).

Para a definição de fármacos e metabólitos prioritários e com maior potencial de preocupação ambiental são necessários critérios específicos. Assim, considerando a necessidade da avaliação do potencial de toxicidade, e ainda, do estabelecimento de prioridades no processo de avaliação de risco, a aplicação dos critérios PBT (Persistência, Bioacumulação e Toxicidade) tem sido bastante considerada por diversas organizações (Sangion & Gramatica, 2016).

Dessa forma, os modelos de avaliação do destino e comportamento de fármacos e metabólitos no meio ambiente desempenham um papel fundamental em auxiliar os tomadores de decisão a preencher as lacunas de alguns dados e, assim, determinar o potencial risco desses microcontaminantes no ambiente, priorizando os compostos para pesquisa e avaliação com mais precisão e eficiência (Chatterjee & Roy, 2022).

Diversos estudos demonstram o uso de ferramentas *in silico* para a predição de parâmetros necessários para a realização de avaliações de risco ambiental e à saúde humana de fármacos e metabólitos, dentre outros microcontaminantes emergentes (Becker et al., 2021; Bouzas-Monroy et al., 2022; Cardoso et al., 2022; Gumbi et al., 2022; Khan et al., 2019; Li et al., 2020; Omotola et al., 2022; Rim, 2020; Roncaglioni et al., 2013).

3.3 ANÁLISE MULTICRITÉRIO PARA TOMADA DE DECISÃO EM AVALIAÇÕES DE RISCO AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA

A utilização de ferramentas *in silico* para a predição de diversos parâmetros em diferentes compostos gera uma grande quantidade de dados. Dessa forma, a análise dos resultados torna-se difícil e demorada. Portanto, estratégias para a análise desses resultados precisam ser exploradas, a fim de apoiar a tomada de decisão na priorização, classificação e categorização de fármacos e metabólitos na avaliação de risco ambiental e à saúde humana.

Uma abordagem alternativa e inovadora é a utilização de ferramentas de análise de decisão multicritério (do inglês, *MCDA*) para priorização, classificação e categorização de compostos de acordo com pontos finais definidos. As técnicas *MCDA* são usadas para avaliar problemas onde diferentes opções ou soluções podem ser implementadas e vários atributos ou fatores estão envolvidos. Nesses problemas, as diferentes opções são chamadas de “alternativas” e os múltiplos atributos são chamados de “critérios” (Pomerol & Barba-Romero, 2000; Ruiz-Padillo et al., 2016). A aplicação de métodos multicritérios na análise de triagem de dados, associados a predições *in silico* usando diferentes parâmetros definidos, permite que os compostos identificados possam ser modelados como alternativas e os parâmetros como critérios, a fim de selecionar os compostos em amostras ambientais que apresentam os maiores riscos ambientais e à saúde humana (Becker et al., 2021).

O método *ELECTRE* é um exemplo dos métodos multicritério, o qual pertence à família das técnicas de superação, que se baseia na construção de uma relação de sobreclassificação que incorpora as preferências estabelecidas pelo tomador de decisão, considerando os critérios avaliados e as alternativas disponíveis (Alvarez et al., 2021).

3.3.1 MÉTODO *ELECTRE*

O método *ELECTRE*, proposto por Roy, 1968 e denominado *ELECTRE I*, pois novas versões da técnica foram desenvolvidas posteriormente, é a técnica de análise multicritério mais representativa da família de métodos de sobreclassificação. As relações de superação estabelecidas entre alternativas, baseadas em critérios de decisão e sua importância relativa, normalmente contraditórias, permitem definir índices de concordância e discordância. Assim, o método auxilia na seleção do conjunto de soluções

mais satisfatórias, embora possam não ser ótimas. Dessa forma, o método *ELECTRE*, assim como outros métodos de decisão multicritério da Escola Europeia (Alvarez et al., 2021), não fornece um ranking de alternativas, mas sim sua categorização em grupos, de acordo com índices de superação. Dentre esses grupos, o conjunto que considera as alternativas não sobreclassificadas por nenhuma outra, denominado conjunto *kernel*, representa as melhores alternativas do ponto de vista simultâneo de todos os critérios considerados. Dessa forma, é possível reduzir o tamanho do grupo de soluções eficientes. Os demais grupos podem ser classificados de acordo com as alternativas que estão sendo superadas. Portanto, ao definir um número máximo de relações de superação, o conjunto de alternativas selecionadas pode ser ampliado, de acordo com o julgamento do decisor (Ruiz-Padillo et al., 2016).

Dentre as vantagens do método *ELECTRE*, encontram-se (Oltean-Dumbrava et al., 2013):

- A realização da comparação dentre as alternativas mesmo que não haja preferência clara por uma delas;
- A capacidade de lidar com julgamentos quantitativos e qualitativos;
- A fundamentação estar estabelecida numa relação de superioridade;
- A criação de relações de comparação entre forte e fraco;
- A criação de diferentes condições de correspondência e incompatibilidade;
- A admissão da existência de limiares de indiferença e limiares de preferência.

4. METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS E REAGENTES

Os padrões de fármacos e metabólitos incluídos neste trabalho foram adquiridos de diferentes fornecedores e possuem grau analítico. Os solventes utilizados foram água ultrapura (18,2 M Ω .cm) (MilliPore®, EUA), acetonitrila (ACN) grau *LC-MS* (LiChrosolv®, Darmstadt-Alemanha), metanol (MeOH) grau *LC-MS* (PanReac AppliChem, Darmstadt-Alemanha), clorofórmio PA (Emsure®, Darmstadt-Alemanha), acetona PA (Emsure®, Darmstadt-Alemanha) e hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol L⁻¹ (Synth, São Paulo - Brasil). As amostras foram filtradas com papel filtro qualitativo (80 g, 25 μ m, Brand, São Paulo-Brasil) e em membranas de *nylon* (0,45 μ m; Allcrom, São Paulo-Brasil). O ajuste do pH das amostras foi realizado com ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,5 mol L⁻¹ (Neon, São Paulo-Brasil). O preparo de amostras incluiu o uso de óxido de alumínio básico (Vetec, Rio de Janeiro-Brasil), sílica gel (Macherey-Nagel, Alemanha), cartuchos de *SPE HLB*® (500 mg, 6 mL; *Waters*, EUA) e filtros de seringa *PVDF* 0,22 μ m (Allcrom, São Paulo-Brasil). As análises de *LC - QTOF MS* empregaram o uso metanol grau *LC-MS* (PanReac AppliChem, Darmstadt-Alemanha), água ultrapura (18,2 M Ω .cm, MilliPore®, EUA) e ácido fórmico (98% de pureza, Sigma-Aldrich, St. Louis -EUA).

4.2 AMOSTRAGEM

As amostras de efluente hospitalar foram coletadas bimestralmente às 9 h da manhã ao longo de um ano (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro de 2019; e fevereiro de 2020). Essas amostras são oriundas de um hospital de grande porte localizado no município de Porto Alegre, RS/ Brasil, o qual possui um fluxo constante de atividades e cujos efluentes são lançados na rede pública de esgoto, onde posteriormente são tratados nas Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) da cidade.

Após a coleta, as amostras foram alocadas em recipientes adequados e armazenadas sob refrigeração para o transporte. No laboratório, as amostras foram filtradas em filtros de papel qualitativo a fim de remover os sólidos suspensos e, após, foram mantidas a -20 °C até o momento da extração e análise.

4.3 PREPARO DE AMOSTRA

Inicialmente, as amostras foram descongeladas. Após, foram filtradas, com auxílio de bomba de vácuo, em membranas de *nylon* de 0,45 μm . Posteriormente, uma alíquota de 15 mL de cada amostra foi retirada. Essas alíquotas foram combinadas para a produção de uma amostra composta com pH 8,7, o qual foi ajustado para pH 5,0 com ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹.

A fim de verificar a técnica de preparo de amostra mais adequada, foram testados cinco procedimentos diferentes, utilizando a mesma amostra composta para todos os testes.

O preparo de amostra 1 baseou-se nos procedimentos realizados por Ibáñez et al., (2017) e Cardoso et al., (2020). Realizou-se, dessa forma, a *SPE*, em duplicata, com um fator de concentração de 15 vezes. Para isso, os cartuchos de *SPE* (Oasis HLB[®], 500 mg, 6 mL) foram primeiramente condicionados com 5 mL de MeOH e 10 mL de água ultrapura, seguido com a percolação de 7,5 mL de amostra composta, sob gravidade. Os cartuchos foram secos por 20 min, usando uma bomba de vácuo. Os analitos foram eluídos para tubos de ensaio, usando dois volumes de 4 mL de MeOH. Os tubos de ensaio foram colocados sob aquecimento em água 40 °C e os eluatos foram secos sob fluxo de N₂. Por fim, as amostras foram reconstituídas com 500 μL de H₂O:MeOH (90:10), filtradas com filtros *PVDF* de 0,22 μm , acondicionadas em *vials* e analisadas por *LC – QTOF MS* conforme descrito na Seção 4.4.

No preparo de amostras 2 realizou-se a *DLLME* baseando-se no procedimento descrito por Becker et al., (2020b). Este procedimento foi realizado, em duplicata, com fator de concentração de 15 vezes, em que 7,5 mL da amostra composta foram colocados em tubos de centrifuga, seguido da adição rápida de 325 μL de clorofórmio (solvente extrator) e 500 μL de ACN (solvente dispersor), ambas quantidades estando dispostas em uma mesma seringa de vidro. Este processo foi realizado duas vezes, resultando na adição de 650 μL de solvente extrator e 1000 μL de solvente dispersor. As amostras foram centrifugadas por 5 min, a 2000 rpm. Após, as fases inferiores foram coletadas com auxílio de microseringas e transferidas para tubos de ensaio. Os tubos de ensaio foram colocados em banho-maria, a 40 °C, e secos sob fluxo de N₂. Por fim, as amostras foram reconstituídas com volumes de 500 μL de H₂O:MeOH (90:10), filtradas em filtros de *PVDF* de 0,22 μm , transferidas para *vials* e analisadas por *LC – QTOF MS*.

A terceira técnica de preparo da amostra (método 3) incluiu uma etapa de limpeza da matriz anteriormente a realização da *DLLME*, uma vez que o efluente hospitalar é caracterizado como uma matriz complexa, pois contém matéria orgânica e uma variedade de compostos químicos (Verlicchi et al., 2010). Esse procedimento, adaptado de Cardoso et al., (2020), foi realizado utilizando sílica gel e óxido de alumínio como sorventes de limpeza. Três massas diferentes desses sorvente foram testadas (Tabela 2, procedimentos 3A, 3B e 3C). A sílica, ligeiramente ácida, tem a capacidade de reter os compostos básicos, enquanto o óxido de alumínio tem a capacidade de reter os compostos ácidos (Pirard et al., 2002; Smith et al., 1984). A limpeza da matriz é essencial para garantir melhores resultados e colabora para manter a integridade do instrumento de análise (Prestes et al., 2009).

Tabela 2. Massas de adsorventes avaliadas nos métodos 3A, 3B e 3C.

Identificação da amostra	Massa de Sílica gel (mg)	Massa de Óxido de Alumínio (mg)
3A	25	25
3B	50	50
3C	125	125

Esses procedimentos foram realizados em duplicata, com fator de concentração da *DLLME* de 15 vezes. As diferentes quantidades de adsorventes foram adicionadas aos tubos de centrífuga, seguida da adição de volumes de 10 mL da amostra composta. As misturas foram agitadas em vórtex por 30 segundos e centrifugadas por 5 minutos a 2000 rpm. Volumes de 7,5 mL dos sobrenadantes foram então coletados e transferidos para tubos de ensaio para realização do *DLLME*, conforme descrito acima (no método 2). As técnicas de preparação de amostras estão resumidas na Tabela 3.

Tabela 3. Resumo das técnicas de preparação de amostras.

Identificação	Preparo de amostra
1	<i>SPE</i> com fator de concentração de 15 vezes
2	<i>DLLME</i> com fator de concentração de 15 vezes
3A	Limpeza (50 mg sorventes) + <i>DLLME</i> com fator de concentração de 15 vezes
3B	Limpeza (100 mg de sorventes) + <i>DLLME</i> com fator de concentração de 15 vezes
3C	Limpeza (250 mg de sorventes) + <i>DLLME</i> com fator de concentração de 15 vezes

4.4 ANÁLISE INSTRUMENTAL

O sistema *LC Nexera X2 (Shimadzu)* acoplado a um espectrômetro de massa *Impact II QTOF (Bruker Daltonics)* foi utilizado para realizar as análises instrumentais. O espectrômetro de massa operou nos modos de ionização positiva e negativa e estava equipado com uma fonte de ionização por *eletrospray (ESI)*.

O sistema cromatográfico estava equipado com uma coluna analítica *Hypersyl GOLD C18* de fase reversa (2,1 mm x 150 mm x 3 mm), termostaticada a 35 °C quando operou no modo de ionização positivo. A fase móvel utilizada neste modo de ionização foi (A) MeOH acidificado com 0,1% de ácido fórmico e (B) H₂O acidificado com 0,1% de ácido fórmico. O programa de eluição gradiente foi: 0 min, 95% B; 1 min, 95% B; 11 min, 5% B; 14 min, 5% B; 16 min, 95% B; 20 min, 95% B, a um fluxo de 0,5 mL min⁻¹. O volume de injeção da amostra foi de 5 µL.

Quando operada no modo de ionização negativa, a coluna foi termostaticada a 30 °C. A fase móvel utilizada neste modo de ionização foi (A) MeOH acidificado com 0,1% de ácido fórmico e (B) H₂O acidificado com 0,1% de ácido fórmico. O programa de eluição gradiente foi: 0 min, 95% B; 1 min, 95% B; 11 min, 0,1% B; 14 min, 0,1% B; 16 min, 95% B; 20 min, 95% B, a um fluxo de 0,4 mL min⁻¹. O volume de injeção da amostra foi de 5 µL.

O espectrômetro de massa operou no modo de aquisição *bbCID* (do inglês, *Broadband Collision Induced Ionization*). Este modo fornece automaticamente e simultaneamente espectros de baixa energia de colisão e de alta energia de colisão. O modo *bbCID* registrou espectros na faixa de m/z 50 - 1000 a uma taxa de varredura de 2 Hz em ambos os modos de ionização.

Além disso, a fim de garantir a qualidade da análise instrumental, alguns procedimentos foram realizados: i) no início de cada análise, o espectrômetro de massa foi calibrado através da injeção de uma solução de formiato de sódio 10 mM; ii) ao início e no final de cada batelada de amostras analisadas, dois mix de padrões de fármacos e metabólitos em duas concentrações conhecidas também foram analisados. Cada composto contido nesse mix foi avaliado e monitorado pela constância das áreas de pico no cromatograma de íons extraídos. Ainda, os tempos de retenção e as massas exatas dos íons moleculares e dos fragmentos dos fármacos e metabólitos foram avaliados a fim de garantir erros ≤ 5 ppm. iii) amostras em branco preparadas com a mesma composição inicial da fase móvel empregada no método de separação (H₂O:MeOH (90:10)) foram analisadas entre amostras do experimento para excluir possível contaminação cruzada.

4.5 TRIAGEM DE FÁRMACOS E METABÓLITOS

Para a identificação de fármacos e metabólitos, uma base de dados foi especialmente construída a partir de dados disponíveis na literatura e em plataformas de espectrometria de massa de livre acesso (www.mzcloud.org; massbank.eu/MassBank/). As informações da base de dados incluíam a fórmula molecular, m/z e o perfil de fragmentação de diversos compostos. Um total de 2030 compostos estava presente nessa base de dados, incluindo compostos frequentemente utilizados no hospital estudado.

A amostra composta foi analisada por *LC – QTOF MS*, conforme descrito na Seção 4.4. Os dados brutos de *LC – QTOF MS* foram processados usando o programa *TASQ* v.2.2 (*Bruker Daltonics*, EUA). Os compostos foram identificados pela presença do íon molecular, utilizando o espectro de baixa energia, e pelo menos dois fragmentos característicos do modo de aquisição *bbCID* (modo de aquisição com alta energia de colisão).

Alguns compostos incluídos na base de dados puderam ter sua presença confirmada na análise de triagem quando seu padrão analítico estava disponível, permitindo, com isso, a obtenção dos seus tempos de retenção e perfis de fragmentação.

Neste caso, os compostos são designados como “confirmados”. Assim, o tempo de retenção com erro de $\pm 0,2$ min em relação ao padrão analítico foi considerado aceitável, juntamente com um erro de massa exata igual ou inferior a 5 ppm, em relação à massa exata teórica. Além disso, são necessários pelo menos dois fragmentos característicos do composto, no mesmo tempo de retenção do íon molecular.

Por sua vez, os fármacos e metabólitos sem padrões analíticos disponíveis são denominados “suspeitos” quando identificados nas análises de triagem, e quando correspondessem às informações obtidas na literatura científica e em bancos de dados de livre acesso, considerando a massa exata, fórmula molecular, distribuição isotópica e perfil de fragmentação. Nesses casos, as análises foram positivas quando se observou os seguintes critérios: massa exata com erro igual ou inferior a 5 ppm em relação à massa exata teórica e a presença de pelo menos 2 fragmentos característicos obtidos no mesmo tempo de retenção do íon molecular.

4.6 PREDIÇÕES BASEADAS NA (Q)SAR

As estruturas químicas dos fármacos e metabólitos identificados na triagem foram transformadas em *SMILES* (do inglês, *Simplified Molecular-Input Line-Entry System*). Esses *SMILES* estão disponíveis em bancos de dados digitais de livre acesso. Diferentes pacotes de programas de livre acesso foram então usados para obter informações quantitativas para oito parâmetros: mobilidade, persistência, ligação ao receptor de estrogênio, remoção total em ETE, biodegradabilidade, PBT, mutagenicidade e carcinogenicidade. Este procedimento foi adaptado de Becker et al., (2021) e está resumido na Tabela 4.

Tabela 4. Programas de predição de parâmetros de risco baseados na (Q)SAR. Tabela adaptada de Becker et al., (2021).

Parâmetro	Dado	Programa
Mobilidade	Log K _{oc}	<i>QSAR Toolbox</i> (v. 4.4.1)
Persistência	Meia-vida em água (dias)	<i>QSAR Toolbox</i> (v. 4.4.1)
Ligação ao receptor de estrogênio	Ligação ao receptor de estrogênio	<i>QSAR Toolbox</i> (v. 4.4.1)
Remoção total em ETE	Remoção total em ETE	<i>QSAR Toolbox</i> (v. 4.4.1)

Parâmetro	Dado	Programa
Biodegradabilidade	BioWin 5	<i>QSAR Toolbox (v. 4.4.1)</i>
PBT	PBT	<i>Prometheus (v. 1.0)</i>
Mutagenicidade	Pontuação de mutagenicidade	Mutagenicidade (Teste Ames) modelo <i>CONSENSUS (v1.0.2)</i> do <i>VEGA QSAR (v.1.1.5)</i>
Carcinogenicidade	Pontuação de carcinogenicidade	(i) Carcinogenicidade modelo (IRFMN/Antares) (versão 1.0.0); (ii) Carcinogenicidade modelo (CAESAR) (versão 2.1.9); (iii) Carcinogenicidade modelo (ISS) (versão 1.0.2); (iv) Carcinogenicidade modelo (IRFMN/ISSCAN-CGX) (versão 1.0.0). Modelos do <i>VEGA QSAR (v.1.1.5)</i>

4.7 MÉTODO *ELECTRE* PARA ANÁLISE MULTICRITÉRIO DE SOBRECCLASSIFICAÇÃO DE FÁRMACOS E METABÓLITOS DE ACORDO COM RISCO AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA

A aplicação do método *ELECTRE* aos dados das análises de triagem, com os dados de predição dos compostos, permitiu modelar os compostos como alternativas e os parâmetros como critérios, a fim de possibilitar a sobreclassificação dos fármacos e metabólitos presentes no efluente hospitalar de acordo com seus riscos ambientais e à saúde humana.

O método *ELECTRE* compara o desempenho de alternativas usando relações, como “ A_m supera A_n ”. Para que a alternativa A_m supere a alternativa A_n e, portanto, faça parte do conjunto *kernel* ou subconjunto de alternativas mais favoráveis, é necessário que a concordância entre A_m e A_n ultrapasse um limite mínimo estabelecido, e que a discordância entre A_m e A_n não deve exceder outro limite estabelecido. Quando isso ocorre, pode-se dizer que a alternativa A_m é preferível à alternativa A_n , de quase todos os pontos de vista, embora isso não implique que A_m domine A_n (Pomerol et al., 2000).

O método *ELECTRE* parte de uma matriz das avaliações normalizadas R_{ij} de cada uma das alternativas A_i (compostos), de acordo com cada um dos respectivos

critérios E_j (parâmetros), bem como um vetor de pesos w_j ou fatores de importância relativa dos critérios (Achillas et al., 2011). Para cada composto i , as avaliações de acordo com cada parâmetro j são denotadas como a_{ij} e constituem o chamado vetor de avaliações do composto. As avaliações normalizadas são calculadas pela normalização do vetor usando a Equação 1:

$$R_{ij} = \frac{a_{ij}}{\sqrt{\sum_i a_{ij}^2}} \quad (1)$$

em que R_{ij} são as avaliações normalizadas do composto i de acordo com o parâmetro j , e a_{ij} são as avaliações diretas do composto i de acordo com o parâmetro j .

Os pesos w_j são informados diretamente pelo pesquisador ou são obtidos por meio de um método de ponderação. No caso do presente estudo, os mesmos pesos utilizados por Becker et al., (2021) foram empregados.

O método, então, continua com comparações em pares das alternativas para cada um dos critérios separadamente. Por fim, a agregação é realizada da seguinte forma: para cada par de compostos A_m e A_n , são calculados os chamados índices de concordância e discordância, dispostos em duas matrizes (Ruiz-Padillo et al., 2016). O índice de concordância c_{mn} inclui o peso total dos pontos finais em que A_m supera A_n (no caso de empate, metade do peso atribuído é adicionado, e nenhum peso é adicionado se A_m não supera A_n), e todos eles formam a matriz de índices de concordância, de acordo com a Equação 2.

$$c_{mn} = \sum_{j | R_{mj} > R_{nj}} w_j + \frac{1}{2} \sum_{j | R_{mj} = R_{nj}} w_j \quad (2)$$

em que c_{mn} é o índice de concordância da comparação dos compostos m e n ; R_{mj} e R_{nj} são as avaliações normalizadas dos compostos m e n , respectivamente, de acordo com o parâmetro j ; e w_j é o peso da extremidade j .

O índice de discordância d_{mn} é calculado como a maior diferença entre as avaliações normalizadas ponderadas R_{mj}^* e R_{nj}^* para as quais o composto A_m é dominado por A_n , dividido pela maior diferença em valor absoluto entre os resultados alcançados pelos compostos A_m e A_n , conforme Equação 3.

$$d_{mn} = \frac{\max_{j | R_{mj} < R_{nj}} |R_{mj}^* - R_{nj}^*|}{\max_j |R_{mj}^* - R_{nj}^*|} \quad (3)$$

em que d_{mn} é o índice de discordância da comparação dos compostos m e n ; $Rmj^* = Rmj \cdot w_j$ e $Rnj^* = Rnj \cdot w_j$, sendo Rmj e Rnj as avaliações normalizadas dos compostos m e n , respectivamente, de acordo com o parâmetro j , e w_j sendo o peso do parâmetro j .

Em seguida, a matriz de dominância de concordância u_{mn} é calculada a partir da matriz de índices de concordância c_{mn} , comparando cada elemento com um valor limite c , definido pelo valor médio dos valores da matriz: se o elemento da matriz de índices de concordância for maior que o limite valor c , um valor de 1 é atribuído na matriz de dominância de concordância; caso contrário, um valor de 0 é atribuído. Assim, os elementos da matriz de dominância de concordância u_{mn} são obtidos usando a seguinte regra:

$$u_{mn} = \begin{cases} 1, & \text{if } c_{mn} > c \\ 0, & \text{if } c_{mn} \leq c \end{cases} \quad (4)$$

em que u_{mn} é o índice de dominância de concordância da comparação dos compostos m e n ; c_{mn} é o valor do índice de concordância para os compostos m e n (conforme Equação 2), e c é o valor médio de todos os valores de c_{mn} da matriz de concordância.

Da mesma forma, a matriz de dominância de discordância v_{mn} é determinada a partir da matriz de índices de discordância d_{mn} , comparando cada elemento com um limite máximo d , definido como o valor médio dos valores da matriz: se o elemento da matriz de índices de discordância for menor que o limite valor d na matriz de dominância de discordância, um valor de 1 é atribuído; caso contrário, um valor de 0 é atribuído. Em outras palavras, os elementos da matriz de dominância de discordância v_{mn} são obtidos de acordo com a seguinte regra:

$$v_{mn} = \begin{cases} 1, & \text{if } d_{mn} < d \\ 0, & \text{if } d_{mn} \geq d \end{cases} \quad (5)$$

em que v_{mn} é o índice de dominância de discordância da comparação dos compostos m e n ; d_{mn} é o valor do índice de discordância para os compostos m e n (conforme Equação 3); e d é o valor médio de todos os valores d_{mn} da matriz de concordância.

Por fim, é determinada a matriz de dominância agregada (concordância-

discordância), cujos elementos são obtidos pela multiplicação dos valores homólogos das matrizes de dominância de concordância e discordância previamente calculadas:

$$x_{mn} = u_{mn} \cdot v_{mn} \quad (6)$$

em que x_{mn} é o índice de dominância agregado da comparação dos compostos m e n ; u_{mn} é o valor do índice de dominância de concordância para os compostos m e n ; e v_{mn} é o índice de dominância de discordância da comparação dos compostos m e n (conforme Equação 5).

A interpretação analítica dos elementos desta matriz é muito intuitiva: se o elemento x_{mn} assume o valor 1, isso significa que a alternativa A_m é melhor que a alternativa A_n para um número significativo de critérios (concordância) e não é claramente pior para nenhum critério (discordância). Consequentemente, A_m supera A_n . Por outro lado, se o elemento x_{mn} assumir o valor 0, isso significa que a alternativa A_m não é melhor que A_n para um número significativo de critérios e/ou é claramente pior para alguns critérios. Portanto, A_m não supera A_n .

A partir dos valores da matriz de dominância agregada, forma-se um gráfico em que cada nó representa as alternativas do problema (neste caso, os fármacos e metabólitos), e os links representam as relações de superação entre eles. Para a construção do gráfico *ELECTRE*, uma ligação é traçada do nó m (composto A_m) ao nó n (composto A_n) somente se o elemento x_{mn} for 1. A partir desse gráfico, obtém-se um subgráfico representando o *kernel*, formado por aquelas alternativas que não são dominadas (superadas) por nenhuma outra (ou seja, não há enlaces de chegada nos nós correspondentes). As alternativas restantes são dominadas (superadas) por uma ou mais alternativas do *kernel* (ou seja, em todas elas pelo menos um link vem de algum nó do *kernel*).

Para confirmar a robustez dos resultados de sobreclassificação obtidos com o método *ELECTRE*, foi realizado um teste de sensibilidade, alterando os pesos inicialmente relatados para valores diminuídos em 0,5 pontos e aumentados em 1 ponto, conforme Becker et al., (2021). Os novos agrupamentos obtidos com esses pesos foram comparados com o original usando o teste de comparação estatística não paramétrica de *Friedman* (no nível de confiança de 99%).

Tabela 5. Pesos utilizados para cada parâmetro no método *ELECTRE* e teste de sensibilidade.

Parâmetro	Peso original	Peso -0,5	Peso +1
Mobilidade	1	0,5	2
Persistência	1	0,5	2
Ligação ao receptor de estrogênio	2	1,5	3
Remoção total em ETE	1	0,5	2
Biodegradabilidade	2	1,5	3
PBT	1	0,5	2
Mutagenicidade	2	1,5	3
Carcinogenicidade	3	2,5	4

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS E METABÓLITOS EM EFLUENTE HOSPITALAR

Neste estudo, a metodologia aplicada permitiu a triagem de 2030 fármacos e metabólitos em amostra de efluente hospitalar. A partir de uma única análise de triagem foi possível identificar vários analitos presentes nesta amostra. Análises bem-sucedidas desse tipo já foram relatadas em outros estudos recentes (Becker et al., 2021; Cardoso et al., 2020). No entanto, estudos como este, com a triagem de cerca de 2000 compostos, não têm sido aplicados com tanta frequência.

A análise de triagem de fármacos e metabólitos na amostra composta, comparando os diferentes métodos de preparo da amostra, identificou um total de 105 microcontaminantes, incluindo 28 “compostos confirmados” (c) e 77 “compostos suspeitos” (s). Os apêndices A e B resumem os resultados da análise de triagem. Cerca de 89% dos compostos identificados são fármacos, enquanto 11% são metabólitos.

O método 1 identificou, em média, 77 fármacos e metabólitos (incluindo “compostos confirmados” e “compostos suspeitos”). O método 2 resultou na identificação de uma média de 66 substâncias (“compostos confirmados” + “compostos suspeitos”). O método de preparação de amostra 3A permitiu a identificação de uma média de 68 compostos (“compostos confirmados” + “compostos suspeitos”), enquanto o método 3B permitiu a identificação de uma média de 77 fármacos e metabólitos (“compostos confirmados” + “compostos suspeitos”). O método de preparo de amostra 3C resultou na identificação de uma média de 60 compostos (“compostos confirmados” + “compostos suspeitos”). Esses resultados estão esquematizados na Figura 2.

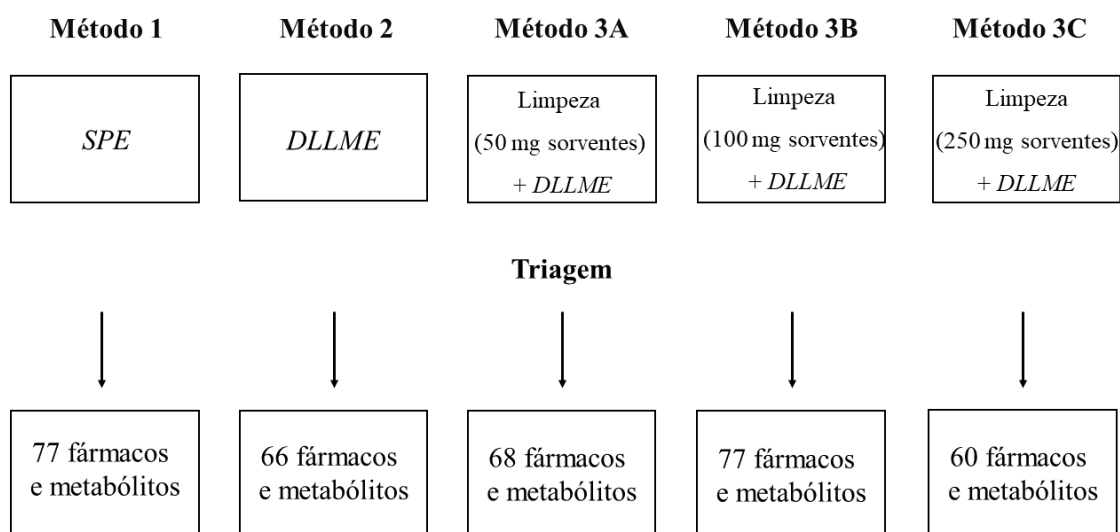


Figura 2. Número de compostos identificados na análise de triagem para as diferentes técnicas de preparo de amostras testadas.

Na comparação das diferentes técnicas de preparo de amostras, o método 1 e o método 3B possibilitaram a identificação do mesmo número de microcontaminantes, quando a mesma amostra composta foi utilizada nas análises. No entanto, a *SPE* inclui as desvantagens do longo tempo de execução, maior gasto de solventes e os altos custos dos cartuchos disponíveis comercialmente (Biziuk, 2006). Enquanto isso, a *DLLME* é mais rápida, simples e barata (Becker et al., 2020b), proporcionando resultados satisfatórios, podendo também ser combinada com outras técnicas de preparo de amostras (Martins et al., 2012) ou etapas de limpezas.

Aqui, a combinação da *DLLME* e uma etapa de limpeza prévia utilizando 50 mg de sílica gel e 50 mg de óxido de alumínio básico mostrou-se um método satisfatório para a limpeza da matriz, extração e pré-concentração de diferentes analitos presentes na amostra composta de efluente hospitalar. Os resultados da análise de custo e de demanda temporal para a realização dos preparos de amostras, mostrados na Tabela 6, comprovam que a *SPE* é mais cara que o método 3B (limpeza + *DLLME*) tendo em vista os altos custos dos cartuchos disponíveis, além de exigir um tempo maior para a execução da técnica. Em contraste, o método 3B apresentou um custo reduzido e uma exigência de tempo de 25 minutos por amostra. Portanto, esse método de preparo de amostra pôde ser considerado o mais vantajoso dentre os testados. A Figura 3 ilustra o procedimento de preparação de amostra do método 3B.

Tabela 6. Análise de custo e de demanda temporal para a execução do método de preparo de amostra 1 (*SPE*) e do método 3B (limpeza + *DLLME*).

Preparo de amostra	Materiais e reagentes	Quantidade	Valor (R\$)	Valor total (R\$)	Demanda de tempo (min)
Limpeza + <i>DLLME</i>	Sílica gel	50 mg	28,50	52,31	25
	Óxido de Alumínio	50 mg	23,27		
	Clorofórmio	650 µL	0,35		
	Acetonitrila	1000 µL	0,19		
<i>SPE</i>	Metanol	13 mL	6,54	64,03	50
	Cartucho Oasis® HLB 500 mg, 6 mL	1 unidade	57,49		

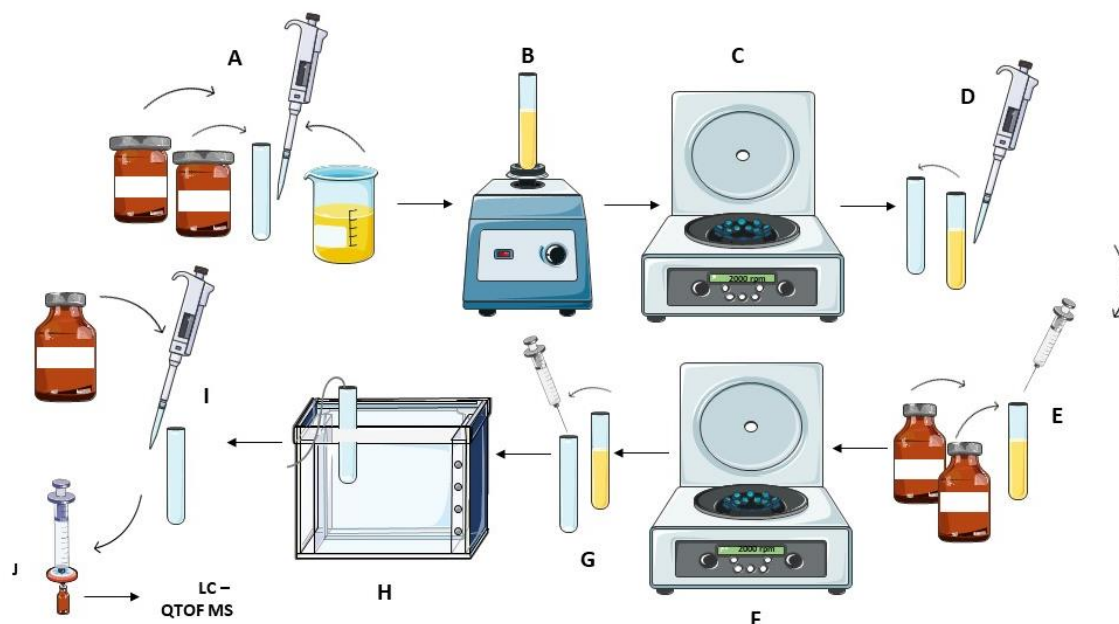


Figura 3. Procedimento de preparo de amostras 3B: (A) adição de sorventes ao efluente hospitalar; (B) agitação por vórtex; (C) centrifugação; (D) remoção de uma alíquota de 7,5 mL; (E) adição dos solventes de extração e dispersão; (F) centrifugação; (G) coleta da fase inferior; (H) secagem da amostra sob fluxo de N₂ em banho-maria; (I) reconstituição da amostra com H₂O:MeOH (90:10); (J) filtragem da amostra através de um filtro *PVDF* de 0,22 µm; (K) análise usando *LC – QTOF MS*.

A Tabela 7 mostra a classificação e subclassificação dos fármacos e metabólitos identificados na análise de triagem. As subclasses de medicamentos com maior frequência de detecção foram os analgésicos, anti-inflamatórios, antibióticos, psicoativos e hormônios, conforme mostradas na Figura 4. Essas subclasses farmacêuticas também são as mais relatadas em estudos de diferentes matrizes aquosas, incluindo efluentes hospitalares (Afsa et al., 2020; Hernández-Tenorio et al., 2021; Kosma et al., 2020; Mackull'ak et al., 2021; Becker et al., 2020a).

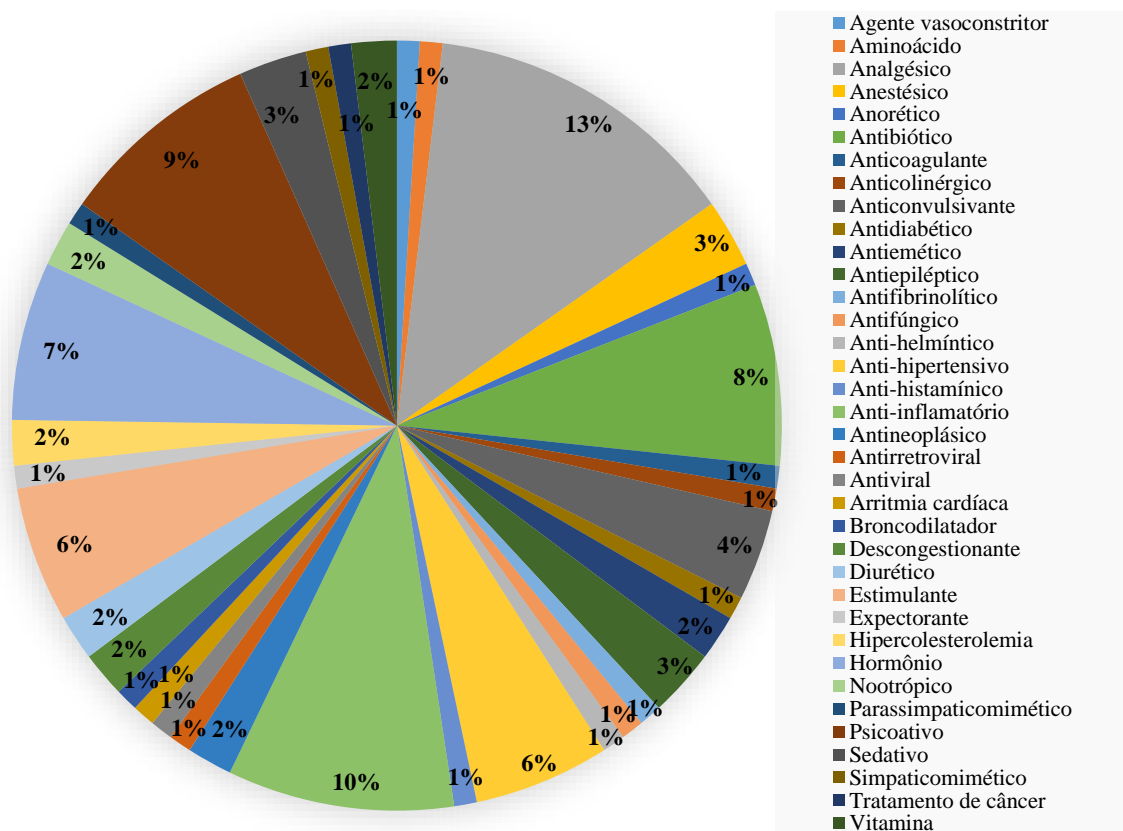


Figura 4. Subclassificação dos fármacos e metabólitos identificados na análise de triagem.

Tabela 7. Classificação e subclassificação de fármacos e metabólitos identificados na análise de triagem.

Composto	Fórmula molecular	Classe	Subclasse	Modo de ionização	Fórmula do íon	Identificação	tr (min)
1-Metilxantina	C ₆ H ₆ N ₄ O ₂	Metabólito	Estimulante	Positivo	[C ₆ H ₇ N ₄ O ₂] ⁺	Suspeito	2,7
1,3,7- Ácido trimetilúrico	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₃	Metabólito	Estimulante	Negativo	[C ₈ H ₉ N ₄ O ₃] ⁻	Suspeito	4,65
17- Alfa-estradiol	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	Fármaco	Hormônio	Positivo	[C ₁₈ H ₂₅ O ₂] ⁺	Suspeito	10,48
17- Alfa-hidroxiprogesterona	C ₂₁ H ₃₀ O ₃	Fármaco	Hormônio	Positivo	[C ₂₁ H ₃₁ O ₃] ⁺	Suspeito	8,49
19- Nortestosterona	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	Fármaco	Hormônio	Positivo	[C ₁₈ H ₂₇ O ₂] ⁺	Suspeito	10,88
2,5-Dimetoxianfetamina	C ₁₁ H ₁₇ NO ₂	Fármaco	Psicoativo	Positivo	[C ₁₁ H ₁₈ NO ₂] ⁺	Suspeito	2,83
2-Hidroxycarbamazepina	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	Metabólito	Antiepiléptico	Positivo	[C ₁₅ H ₁₃ N ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	6,29
4-Acetamidoantipirina	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₂	Metabólito	Analgésico	Positivo	[C ₁₃ H ₁₆ N ₃ O ₂] ⁺	Suspeito	4,41
4-Aminoantipirina	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ O	Metabólito	Analgésico	Positivo	[C ₁₁ H ₁₄ N ₃ O] ⁺	Confirmado	3,43
4-Formilaminoantipirina	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₂	Metabólito	Analgésico	Positivo	[C ₁₂ H ₁₄ N ₃ O ₂] ⁺	Suspeito	4,32
4-Metilaminoantipirina	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O	Metabólito	Analgésico	Positivo	[C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O] ⁺	Suspeito	3,39
5-Ácido aminossalicílico	C ₇ H ₇ NO ₃	Fármaco	Anti-inflamatório	Positivo	[C ₇ H ₈ NO ₃] ⁺	Suspeito	1,8
7- Hidroxiquetiapina	C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₃ S	Metabólito	Psicoativo	Positivo	[C ₂₁ H ₂₆ N ₃ O ₃ S] ¹⁺	Suspeito	5,97
Aceclidina	C ₉ H ₁₅ NO ₂	Fármaco	Parassimpaticomimético	Positivo	[C ₉ H ₁₆ NO ₂] ⁺	Suspeito	6,24
Acetaminofeno	C ₈ H ₉ NO ₂	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₈ H ₁₀ NO ₂] ⁺	Confirmado	2,99
				Negativo	[C ₈ H ₈ NO ₂] ⁻	Confirmado	3,36
Acetanilida	C ₈ H ₉ NO	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₈ H ₁₀ NO] ⁺	Suspeito	1,35
Aciclovir	C ₈ H ₁₁ N ₅ O ₃	Fármaco	Antiviral	Positivo	[C ₈ H ₁₂ N ₅ O ₃] ⁺	Suspeito	1,58
				Negativo	[C ₈ H ₁₀ N ₅ O ₃] ⁻	Suspeito	2,13
Ácido Carboxílico Losartana	C ₂₂ H ₂₁ ClN ₆ O ₂	Metabólito	Anti-hipertensivo	Positivo	[C ₂₂ H ₂₂ ClN ₆ O ₂] ⁺	Suspeito	8,64

Composto	Fórmula molecular	Classe	Subclasse	Modo de ionização	Fórmula do íon	Identificação	tr (min)
Ácido de nicotina	C ₆ H ₅ NO ₂	Fármaco	Vitamina	Positivo	[C ₆ H ₆ NO ₂] ⁺	Suspeito	1,08
Ácido meclufenâmico	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	Fármaco	Anti-inflamatório	Positivo	[C ₁₄ H ₁₂ Cl ₂ NO ₂] ⁺	Suspeito	9,7
Ácido micofenólico	C ₁₇ H ₂₀ O ₆	Fármaco	Antibiótico	Negativo	[C ₁₇ H ₁₉ O ₆] ⁻	Suspeito	8,81
Ácido tranexâmico	C ₈ H ₁₅ NO ₂	Fármaco	Antifibrinolítico	Positivo	[C ₈ H ₁₆ NO ₂] ⁺	Suspeito	1,26
Ácido valproato	C ₈ H ₁₆ O ₂	Fármaco	Anticonvulsivante	Positivo	[C ₈ H ₁₇ O ₂] ⁺	Suspeito	8,76
Adrenalona	C ₉ H ₁₁ NO ₃	Fármaco	Agente vasoconstritor	Positivo	[C ₉ H ₁₂ NO ₃] ⁺	Suspeito	1,34
Androstenediona	C ₁₉ H ₂₆ O ₂	Fármaco	Hormônio	Positivo	[C ₁₉ H ₂₇ O ₂] ⁺	Suspeito	9,96
Apronalide	C ₉ H ₁₆ N ₂ O ₂	Fármaco	Sedativo	Positivo	[C ₉ H ₁₇ N ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	3,48
Atenolol	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	Fármaco	Anti-hipertensivo	Positivo	[C ₁₄ H ₂₃ N ₂ O ₃] ⁺	Confirmado	3,25
Bezafibrato	C ₁₉ H ₂₀ ClNO ₄	Fármaco	Hipercolesterolemia	Positivo	[C ₁₉ H ₂₁ ClNO ₄] ⁺	Suspeito	8,82
Bufexamaco	C ₁₂ H ₁₇ NO ₃	Fármaco	Anti-inflamatório	Positivo	[C ₁₂ H ₁₈ NO ₃] ⁺	Suspeito	7,98
Butilescopolamina	C ₂₁ H ₃₀ NO ₄ ⁺	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₂₁ H ₃₀ NO ₄] ⁺	Suspeito	5,88
Cafeína	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	Fármaco	Estimulante	Positivo	[C ₈ H ₁₁ N ₄ O ₂] ⁺	Confirmado	4,61
Carbamazepina	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	Fármaco	Psicoativo	Positivo	[C ₁₅ H ₁₃ N ₂ O] ⁺	Suspeito	6,51
Carboxibuprofeno	C ₁₃ H ₁₆ O ₄	Metabólito	Anti-inflamatório	Positivo	[C ₁₃ H ₁₇ O ₄] ⁺	Suspeito	7,64
Cetamina	C ₁₃ H ₁₆ ClNO	Fármaco	Sedativo	Positivo	[C ₁₃ H ₁₇ ClNO] ⁺	Suspeito	5,06
Cetobemidona	C ₁₅ H ₂₁ NO ₂	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₁₅ H ₂₂ NO ₂] ⁺	Suspeito	5,88
Ciclofosfamida	C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P	Fármaco	Antineoplásico	Positivo	[C ₇ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ O ₂ P] ⁺	Confirmado	6,38
Ciprofloxacina	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	Fármaco	Antibiótico	Positivo	[C ₁₇ H ₁₉ FN ₃ O ₃] ⁺	Confirmado	5,09
Codeína	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₁₈ H ₂₂ NO ₃] ⁺	Suspeito	3,6
Cotina	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O	Metabólito	Psicoativo	Positivo	[C ₁₀ H ₁₃ N ₂ O] ⁺	Suspeito	1,47
Desvenlafaxina	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	Fármaco	Psicoativo	Positivo	[C ₁₆ H ₂₆ NO ₂] ⁺	Suspeito	5,34
Diazepam	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O	Fármaco	Psicoativo	Positivo	[C ₁₆ H ₁₄ ClN ₂ O] ⁺	Confirmado	8,77
Diclofenaco	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	Fármaco	Anti-inflamatório	Positivo	[C ₁₄ H ₁₂ Cl ₂ NO ₂] ⁺	Confirmado	9,71
				Negativo	[C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ NO ₂] ⁻	Confirmado	9,92

Composto	Fórmula molecular	Classe	Subclasse	Modo de ionização	Fórmula do íon	Identificação	tr (min)
Difenidramina	C ₁₇ H ₂₁ NO	Fármaco	Anti-histamínico	Positivo	[C ₁₇ H ₂₂ NO] ⁺	Confirmado	7,05
Efedrina	C ₁₀ H ₁₅ NO	Fármaco	Estimulante	Positivo	[C ₁₀ H ₁₆ NO] ⁺	Suspeito	3,53
Enalapril	C ₂₀ H ₂₈ N ₂ O ₅	Fármaco	Anti-hipertensivo	Positivo	[C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₅] ⁺	Suspeito	6,94
Etambutol	C ₁₀ H ₂₄ N ₂ O ₂	Fármaco	Antibiótico	Positivo	[C ₁₀ H ₂₅ N ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	0,99
Etenzamida	C ₉ H ₁₁ NO ₂	Fármaco	Anti-inflamatório	Positivo	[C ₉ H ₁₂ NO ₂] ⁺	Suspeito	2,42
Femprocumona	C ₁₈ H ₁₆ O ₃	Fármaco	Anticoagulante	Positivo	[C ₁₈ H ₁₇ O ₃] ⁺	Suspeito	7,41
Fenacetina	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₁₀ H ₁₄ NO ₂] ⁺	Suspeito	6,23
Fenilefrina	C ₉ H ₁₃ NO ₂	Fármaco	Descongestionante	Positivo	[C ₉ H ₁₄ NO ₂] ⁺	Suspeito	4,53
Fenilpiracetam	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	Fármaco	Nootrópico	Positivo	[C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	5,52
Fluconazol	C ₁₃ H ₁₂ F ₂ N ₆ O	Fármaco	Antifúngico	Positivo	[C ₁₃ H ₁₃ F ₂ N ₆ O] ⁺	Confirmado	5,63
				Negativo	[C ₁₃ H ₁₁ F ₂ N ₆ O] ⁻	Confirmado	6,15
Flutamida	C ₁₁ H ₁₁ F ₃ N ₂ O ₃	Fármaco	Tratamento de câncer	Negativo	[C ₁₁ H ₁₀ F ₃ N ₂ O ₃] ⁻	Confirmado	9,19
Furosemida	C ₁₂ H ₁₁ ClN ₂ O ₅ S	Fármaco	Diurético	Negativo	[C ₁₂ H ₁₀ ClN ₂ O ₅ S] ⁻	Confirmado	7,32
Gabapentina	C ₉ H ₁₇ NO ₂	Fármaco	Psicoativo	Positivo	[C ₉ H ₁₈ NO ₂] ⁺	Suspeito	3,91
Guaifenesina	C ₁₀ H ₁₄ O ₄	Fármaco	Expectorante	Positivo	[C ₁₀ H ₁₅ O ₄] ⁺	Suspeito	3,59
Hidroclorotiazida	C ₇ H ₈ ClN ₃ O ₄ S ₂	Fármaco	Diurético	Negativo	[C ₇ H ₇ ClN ₃ O ₄ S ₂] ⁻	Confirmado	3,67
Hidrocodona	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₁₈ H ₂₂ NO ₃] ⁺	Suspeito	3,6
Hidromorfona	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₁₇ H ₂₀ NO ₃] ⁺	Suspeito	3,61
Hidroxitestosterona	C ₁₉ H ₂₈ O ₃	Fármaco	Hormônio	Positivo	[C ₁₉ H ₂₉ O ₃] ⁺	Suspeito	8,63
Ibuprofeno	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	Fármaco	Anti-inflamatório	Negativo	[C ₁₃ H ₁₇ O ₂] ⁻	Confirmado	10,08
Levetiracetam	C ₈ H ₁₄ N ₂ O ₂	Fármaco	Antiepiléptico	Positivo	[C ₈ H ₁₅ N ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	3,67
Levofloxacino	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	Fármaco	Antibiótico	Positivo	[C ₁₈ H ₂₁ FN ₃ O ₄] ⁺	Confirmado	4,89
Levopropilhexedrina	C ₁₀ H ₂₁ N	Fármaco	Anorético	Positivo	[C ₁₀ H ₂₂ N] ⁺	Suspeito	3,95
Lidocaína	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	Fármaco	Anestésico	Positivo	[C ₁₄ H ₂₃ N ₂ O] ⁺	Confirmado	4,61
L-Lisina	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	Fármaco	Aminoácido	Positivo	[C ₆ H ₁₅ N ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	0,73

Composto	Fórmula molecular	Classe	Subclasse	Modo de ionização	Fórmula do íon	Identificação	tr (min)
Losartana	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₆ O	Fármaco	Anti-hipertensivo	Positivo	[C ₂₂ H ₂₄ ClN ₆ O] ⁺	Confirmado	8,27
				Negativo	[C ₂₂ H ₂₂ ClN ₆ O] ⁻	Confirmado	8,57
Metformina	C ₄ H ₁₁ N ₅	Fármaco	Antidiabético	Positivo	[C ₄ H ₁₂ N ₅] ⁺	Suspeito	0,86
Metilprednisolona	C ₂₂ H ₃₀ O ₅	Fármaco	Anti-inflamatório	Positivo	[C ₂₂ H ₃₁ O ₅] ⁺	Suspeito	8,38
Metoclopramida	C ₁₄ H ₂₂ ClN ₃ O ₂	Fármaco	Antiemético	Positivo	[C ₁₄ H ₂₃ ClN ₃ O ₂] ⁺	Confirmado	5,02
Metoprolol	C ₁₅ H ₂₅ NO ₃	Fármaco	Anti-hipertensivo	Positivo	[C ₁₅ H ₂₆ NO ₃] ⁺	Confirmado	5,49
Metotrexato	C ₂₀ H ₂₂ N ₈ O ₅	Fármaco	Antineoplásico	Positivo	[C ₂₀ H ₂₃ N ₈ O ₅] ⁺	Confirmado	4,59
Metoxetamina	C ₁₅ H ₂₁ NO ₂	Fármaco	Anestésico	Positivo	[C ₁₅ H ₂₂ NO ₂] ⁺	Suspeito	3,92
Metoxifenamina	C ₁₁ H ₁₇ NO	Fármaco	Broncodilatador	Positivo	[C ₁₁ H ₁₈ NO] ⁺	Suspeito	3,23
Metronidazol	C ₆ H ₉ N ₃ O ₃	Fármaco	Antibiótico	Positivo	[C ₆ H ₁₀ N ₃ O ₃] ⁺	Confirmado	2,79
Naproxeno	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	Fármaco	Anti-inflamatório	Positivo	[C ₁₄ H ₁₅ O ₃] ⁺	Confirmado	8,68
Nimesulida	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₅ S	Fármaco	Anti-inflamatório	Negativo	[C ₁₃ H ₁₁ N ₂ O ₅ S] ⁻	Confirmado	8,6
N-Methyl-2,3-dihydro-1H-inden-2-amine	C ₁₀ H ₁₃ N	Fármaco	Psicoativo	Positivo	[C ₁₀ H ₁₄ N] ⁺	Suspeito	3,53
Norfenilefrina	C ₈ H ₁₁ NO ₂	Fármaco	Simpaticomimético	Positivo	[C ₈ H ₁₂ NO ₂] ⁺	Suspeito	3,67
Ofloxacino	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	Fármaco	Antibiótico	Positivo	[C ₁₈ H ₂₁ FN ₃ O ₄] ⁺	Confirmado	4,89
Ondansetrom	C ₁₈ H ₁₉ N ₃ O	Fármaco	Antiemético	Positivo	[C ₁₈ H ₂₀ N ₃ O] ⁺	Suspeito	5,78
Orfenadrina	C ₁₈ H ₂₃ NO	Fármaco	Anticolinérgico	Positivo	[C ₁₈ H ₂₄ NO] ⁺	Suspeito	7,71
Oxcarbazepina	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	Fármaco	Anticonvulsivante	Positivo	[C ₁₅ H ₁₃ N ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	6,28
Petidina	C ₁₅ H ₂₁ NO ₂	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₁₅ H ₂₂ NO ₂] ⁺	Suspeito	5,88
Piracetam	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₂	Fármaco	Nootrópico	Positivo	[C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	6,03
Piridoxina	C ₈ H ₁₁ NO ₃	Fármaco	Vitamina	Positivo	[C ₈ H ₁₂ NO ₃] ⁺	Suspeito	1,14
Practolol	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	Fármaco	Arritmia cardíaca	Positivo	[C ₁₄ H ₂₃ N ₂ O ₃] ⁺	Suspeito	3,25
Pregabalina	C ₈ H ₁₇ NO ₂	Fármaco	Antiepiléptico	Positivo	[C ₈ H ₁₈ NO ₂] ⁺	Suspeito	3,84
Primidona	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	Fármaco	Anticonvulsivante	Positivo	[C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	5,53
Progesterona	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	Fármaco	Hormônio	Positivo	[C ₂₁ H ₃₁ O ₂] ⁺	Confirmado	9,94

Composto	Fórmula molecular	Classe	Subclasse	Modo de ionização	Fórmula do íon	Identificação	tr (min)
Propranolol	C ₁₆ H ₂₁ NO ₂	Fármaco	Anti-hipertensivo	Positivo	[C ₁₆ H ₂₂ NO ₂] ⁺	Confirmado	6,95
Pseudoefedrina	C ₁₀ H ₁₅ NO	Fármaco	Descongestionante	Positivo	[C ₁₀ H ₁₆ NO] ⁺	Suspeito	3,53
Remifentanil	C ₂₀ H ₂₈ N ₂ O ₅	Fármaco	Analgésico	Positivo	[C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₅] ⁺	Suspeito	6,97
Ritonavir	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	Fármaco	Antirretroviral	Positivo	[C ₃₇ H ₄₉ N ₆ O ₅ S ₂] ⁺	Suspeito	9,95
Rosuvastatina	C ₂₂ H ₂₈ FN ₃ O ₆ S	Fármaco	Hipercolesterolemia	Positivo	[C ₂₂ H ₂₉ FN ₃ O ₆ S] ⁺	Suspeito	8,31
				Negativo	[C ₂₂ H ₂₇ FN ₃ O ₆ S] ⁻	Suspeito	8,59
Salicilamida	C ₇ H ₇ NO ₂	Fármaco	Anestésico	Positivo	[C ₇ H ₈ NO ₂] ⁺	Suspeito	0,87
Sulfametoxazol	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	Fármaco	Antibiótico	Negativo	[C ₁₀ H ₁₀ N ₃ O ₃ S] ⁻	Confirmado	5,48
Sulfóxido de Albendazol	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃ S	Metabólito	Anti-helmíntico	Positivo	[C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ S] ⁺	Suspeito	5,72
Temazepam	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O ₂	Fármaco	Sedativo	Positivo	[C ₁₆ H ₁₄ ClN ₂ O ₂] ⁺	Suspeito	8,42
Teobromina	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	Metabólito	Estimulante	Positivo	[C ₇ H ₉ N ₄ O ₂] ⁺	Suspeito	3,31
Teofilina	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	Metabólito	Estimulante	Positivo	[C ₇ H ₉ N ₄ O ₂] ⁺	Suspeito	3,8
Testosterona	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	Fármaco	Hormônio	Positivo	[C ₁₉ H ₂₉ O ₂] ⁺	Suspeito	9,5
THJ-2201	C ₂₃ H ₂₁ FN ₂ O	Fármaco	Psicoativo	Positivo	[C ₂₃ H ₂₂ FN ₂ O] ⁺	Suspeito	3,22
Topiramato	C ₁₂ H ₂₁ NO ₈ S	Fármaco	Anticonvulsivante	Positivo	[C ₁₂ H ₂₂ NO ₈ S] ⁺	Suspeito	6,33
Trimetoprim	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	Fármaco	Antibiótico	Positivo	[C ₁₄ H ₁₉ N ₄ O ₃] ⁺	Confirmado	4,46

5.2 ABORDAGENS (Q)SAR NA AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL E À SAÚDE HUMANA DE FÁRMACOS E METABÓLITOS

Após a identificação dos fármacos e metabólitos presentes na amostra de efluente hospitalar, foram realizadas predições de risco *in silico* para os 105 microcontaminantes identificados, conforme Becker et al., (2021). Os resultados para cada parâmetro são mostrados nos Apêndices C e D. Os principais resultados quantitativos estão fornecidos na Figura 5.

A mobilidade dos fármacos e metabólitos identificados foi predita a partir do logaritmo do coeficiente de adsorção no solo ($\log K_{oc}$), que expressa a proporção de um composto adsorvido no carbono orgânico da fase sólida em um sistema bifásico água/ solo ou sistema água/ sedimento. A escala de mobilidade foi baseada nos valores propostos por Becker, et al., (2021). Valores preditos de $\log K_{oc} \leq 1$, $1 < \log K_{oc} \leq 3$ e $3 < \log K_{oc} \leq 5$ corresponderam à classificação do composto em alta, moderada e leve mobilidade, respectivamente. Quando o composto apresentou $\log K_{oc} > 5$, foi considerada imóvel. 15% dos compostos foram preditos como altamente móveis, significando que eles têm maior facilidade de adentrar os diferentes compartimentos ambientais. Em contrapartida, 4% dos compostos foram preditos como imóveis em água, significando que eles têm maior facilidade de ficarem adsorvidos no solo, o que também representa um problema ambiental. Os resultados para mobilidade são mostrados no Apêndice C.

Persistência é a capacidade de um composto resistir à degradação no ambiente aquático (Wennmolm & Gunnarsson, 2005). Esse parâmetro foi predito a partir do tempo de meia-vida em água, com base nos critérios de classificação descritos por dos Santos et al. (2019). Quando os tempos de meia-vida (dias) preditos foram ≥ 180 ; entre 60 e 179; e entre 30 e 59, os compostos foram classificados, respectivamente, como altamente persistentes, persistentes e moderadamente persistentes. Quando um composto foi predito com tempo de meia-vida < 30 dias, esta foi considerada não persistente

Dos microcontaminantes identificados, 38 foram preditos como não persistentes, 43 foram considerados moderadamente persistentes em água e 24 foram considerados persistentes ou muito persistente (Apêndice C). Dentre os compostos preditos como persistentes, destacam-se os hormônios 17-alfa-hidroxiprogesterona, androstenediona e progesterona, juntamente com os antibióticos ciprofloxacino,

levofloxacino, ofloxacino e trimetoprim. Vários estudos relataram a presença de antibióticos e hormônios em amostras ambientais aquosas em todo o mundo, incluindo efluentes hospitalares (Afsa et al., 2020; Castro-Pastrana et al., 2021; Hernández-Tenorio et al., 2021; Khan et al., 2021; Kosma et al., 2020), o que muito se à persistência desses microcontaminantes em ambientes aquáticos, concordando com os resultados aqui descritos.

O terceiro parâmetro predito foi a porcentagem de remoção de um composto em uma ETE, o qual expressa a remoção do agente por meio de processos convencionais de tratamento. Este parâmetro, que estima o comportamento de uma substância em uma estação de tratamento de esgoto com lodo ativado, é baseado em estudos desenvolvidos por Clark et al., (1995). Dos 105 compostos identificados, as predições *in silico* indicaram remoção superior a 90% para apenas dois compostos: ácido meclofenâmico e ritonavir. Aminot et al., (2018) relataram em seus estudos que o ritonavir não é estável nos processos das ETEs, uma vez que teve meia-vida inferior a 5 dias em condições bioquímicas para amostras de águas residuais e de superfície testadas. Por outro lado, quase 85% dos compostos tiveram uma taxa de remoção $\leq 10\%$ na estação de tratamento de esgoto de lodo ativado, mostrando que esse tipo de tratamento amplamente utilizado não é eficaz para eliminação da maioria dos microcontaminantes identificados (Azizan et al., 2021; Coimbra et al., 2021; Khasawneh & Palaniandy, 2021; Kodom et al., 2021). Os resultados para remoção total em ETE (%) são mostrados no Apêndice C.

A biodegradabilidade refere-se à degradação de um composto pela ação de microrganismos. Esse parâmetro foi predito utilizando o modelo *BioWin 5*, o qual faz predições baseadas em coeficientes estabelecidos para alertas moleculares, sendo os resultados desse modelo diretamente comparáveis com um método experimental (Boethling & Costanza, 2010; Pavan & Worth, 2008). Os compostos foram considerados biodegradáveis quando os *scores* preditos pelo modelo *BioWin 5* foram $\geq 0,525$. Quando os *scores* foram $\leq 0,475$, as substâncias foram consideradas não biodegradáveis. O *score* de 0,5, acrescido ou decrescido de 5% de incerteza, foi definido na literatura (Pavan & Worth, 2008) como o ponto que diferencia os compostos biodegradáveis dos não biodegradáveis. Assim, valores entre 0,476 e 0,524 foram preditos como de biodegradabilidade incerta. As predições mostraram que apenas 15% dos compostos identificados são biodegradáveis. Com exceção da efedrina (um estimulante), todos os compostos preditos como biodegradáveis também foram preditos como não persistentes

em água. Da mesma forma, todos os compostos preditos como persistentes também foram preditos como não biodegradáveis. O resultado contraditório obtido para a efedrina pode ser justificado pela existência de estereoisômeros dessa molécula. De acordo com a literatura, os diferentes estereoisômeros de efedrina podem diferir significativamente em suas propriedades (Rice et al., 2018). Os resultados de predição da biodegradabilidade são mostrados no Apêndice C.

O critério PBT (persistência, bioacumulação e toxicidade) permite predizer o potencial de um composto persistir no meio ambiente, de se bioconcentrar na cadeia alimentar e de ser tóxico para organismos aquáticos. Esse critério é amplamente utilizado nas avaliações do potencial de toxicidade e risco ambiental de compostos. Os compostos identificados foram preditos como PBT quando os *scores* obtidos foram $\geq 0,525$ e como não PBT quando os *scores* foram preditos como $\leq 0,475$. O *score* de 0,5, com $\pm 5\%$ de incerteza, distinguia os compostos PBT dos compostos preditos como não PBT ((Pizzo et al., 2016; Sangion & Gramatica, 2016). Assim, os *scores* de PBT $> 0,475$ e $< 0,525$, classificavam os compostos preditos como incertos, uma vez que se encontravam fora do domínio de certeza do modelo. As predições do PBT mostraram que 6 compostos estavam fora do domínio do modelo. Todas as outras moléculas identificadas foram preditas como não PBT. Os resultados concordam com o estudo de Sangion e Gramatica, (2016) o qual mostrou que 83% dos 1057 fármacos estudados foram preditos como não-PBT, de acordo com os diferentes modelos estudados. Apenas para o fármaco ritonavir, os resultados diferem nos dois estudos. No trabalho de Sangion e Gramatica (2016), esse fármaco é considerado PBT, enquanto no presente estudo é considerado não PBT. No entanto, os modelos testados nos dois estudos são diferentes, assim, os resultados podem não ser comparáveis. Os resultados de predição para o critério PBT são mostrados no Apêndice C.

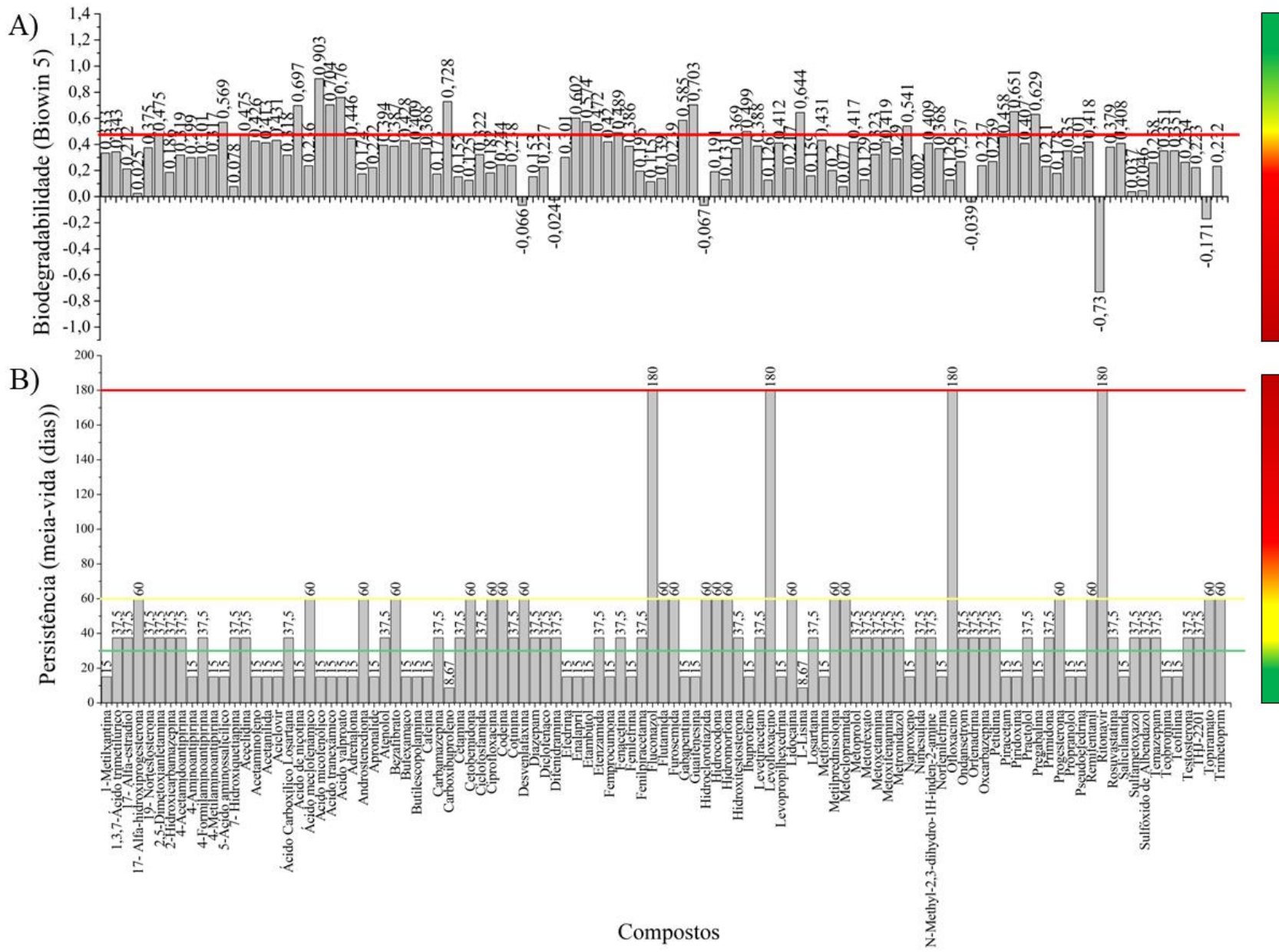
Em relação a parâmetros que avaliam os potenciais riscos à saúde humana, um parâmetro avaliado foi o de força de ligação a receptores de estrogênio. Esse parâmetro prediz a capacidade de um composto a ligar-se a receptores de estrogênio, podendo impedir a ligação do estrogênio ao seu receptor e conseqüentemente interferir no crescimento de algumas células no corpo humano. Levando, então, a desregulação endócrina. Os critérios utilizados para predição quanto à ligação ao receptor de estrogênio foram baseados em Schultz (2011). Assim, 88 fármacos e metabólitos foram preditos como não ligantes ao receptor de estrogênio, enquanto 11 foram preditos como

capazes de realizar ligação forte ou muito forte (Apêndice D). De acordo com a predição *in silico*, os compostos capazes de causar desregulação endócrina, além dos hormônios 17-alfa-estradiol, 19-nortestosterona e testosterona, são a 2-hidroxicarbamazepina (metabólito da carbamazepina) e a 7-hidroxiquetiapina (metabólito da quetiapina).

A mutagenicidade é a propriedade pela qual um composto pode induzir ou aumentar a frequência de mutação em um organismo. Para o parâmetro de mutagenicidade, foram avaliadas as classificações preditas pelo programa *VEJA v.1.1.5 (Q)SAR*. Dos compostos identificados, 21 foram considerados mutagênicos, sendo 2 deles metabólitos. Os resultados de mutagenicidade são mostrados no Apêndice D. Esse resultado corrobora com a importância da inserção de metabólitos a estudos de ocorrência de fármacos, uma vez que a ocorrência de metabólitos também pode causar impactos ao meio ambiente e à saúde humana.

A carcinogenicidade, por outro lado, refere-se à possibilidade de uma substância poder induzir um carcinoma. A carcinogenicidade dos compostos foi predita a partir do uso de quatro modelos diferentes. Os modelos utilizados estão descritos na Tabela 4. Cada modelo empregou uma escala de classificação de 0 (não cancerígeno) a 1 (carcinogênico). O valor final da escala de classificação para cada microcontaminante foi obtido a partir da média dos valores propostos por cada um dos quatro modelos. Esta escala final de classificação de carcinogenicidade foi proposta por Becker et al., (2021). Nesse sentido, *scores* de carcinogenicidade menores ou iguais a 0,39 indicam que os compostos foram preditos como não carcinogênicos, com confiabilidade variando de acordo com a pontuação final (quanto mais próximo de 0, maior a confiabilidade). Valores maiores ou iguais a 0,7 foram preditos como carcinogênicos, com sua confiabilidade dependente do *score* final (quanto mais próximo de 1, maior a confiabilidade). Por sua vez, os compostos que apresentaram pontuação final entre 0,4 e 0,69 foram classificados como possivelmente não carcinogênicos ou possivelmente carcinogênicos. Para 52% das moléculas previstas, o *score* de carcinogenicidade ficou entre 0,4 e 0,69, de modo que foram classificadas como possivelmente carcinogênicas ou possivelmente não carcinogênicas, dependendo da pontuação final. Apenas 17% dos compostos foram preditos como não cancerígenos, enquanto 31% deles foram preditos como cancerígenos, incluindo seis metabólitos, sete hormônios, quatro antibióticos e três medicamentos anti-inflamatórios. Os fármacos que obtiveram os maiores *scores* de carcinogenicidade utilizando as ferramentas *in silico* (17-alfa-estradiol, ciclofosfamida,

gabapentina, metronidazol e fenacetina) são justamente os microcontaminantes que já apresentaram valores experimentais positivos para carcinogenicidade (Graziano & Jacobson-Kram, 2015). Os resultados de carcinogenicidade preditos para os 105 compostos avaliados são apresentados no Apêndice D.



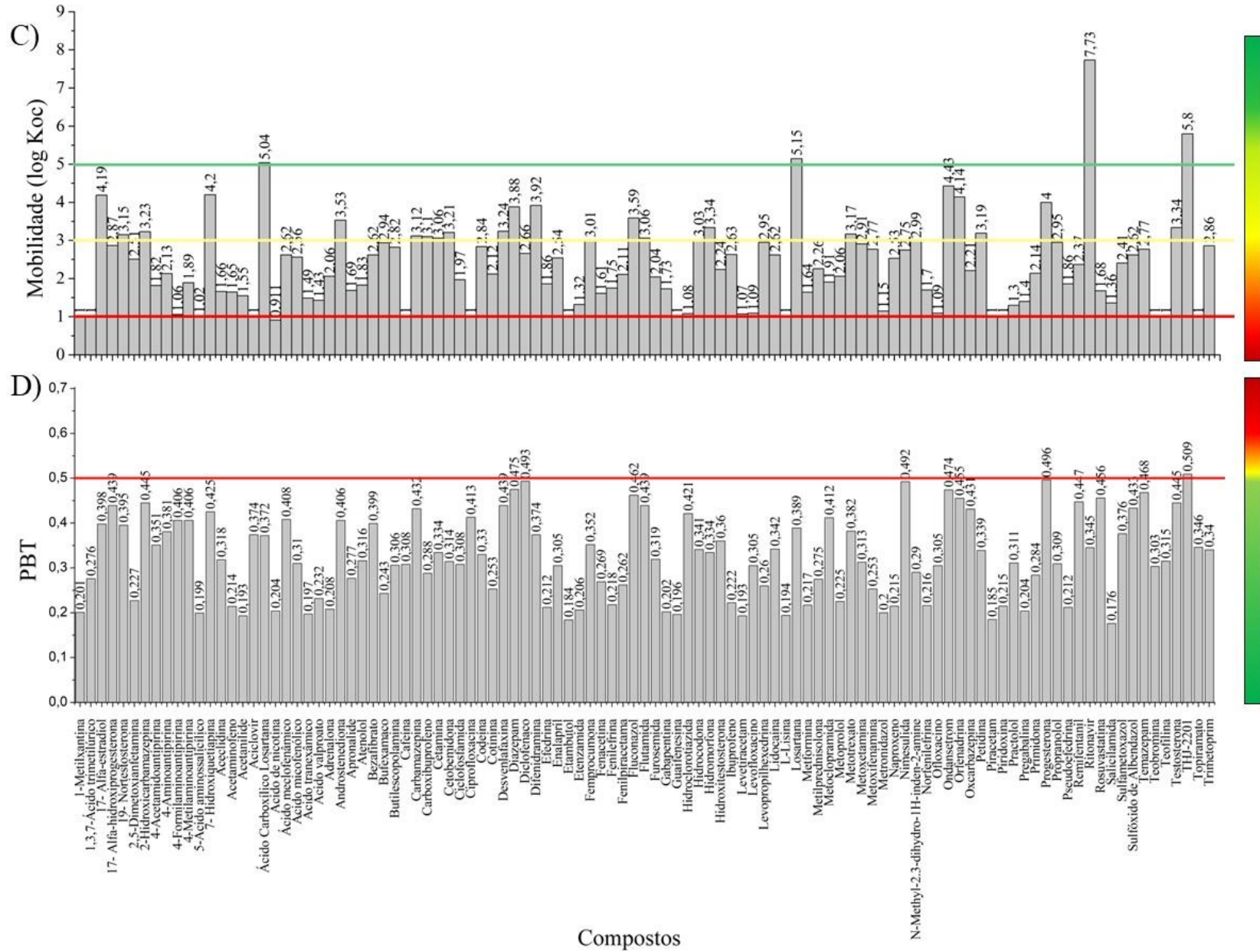


Figura 5. Predições baseadas na (Q)SAR para os compostos identificados: (A) biodegradabilidade, (B) persistência, (C) mobilidade e (D) PBT. Os limites vermelho, amarelo e verde representam a classificação de cada parâmetro: maior preocupação (vermelho), menor preocupação (verde).

5.3 SOBRECLASSIFICAÇÃO DE FÁRMACOS E METABÓLITOS IDENTIFICADOS POR TRIAGEM UTILIZANDO O MÉTODO *ELECTRE*

A aplicação do método *ELECTRE* conforme descrito na Seção 4.7 gerou uma matriz das avaliações normalizadas R_{ij} . A partir dela, foi possível determinar o conjunto de *kernel*, bem como categorizar os demais compostos analisados em grupos, de acordo com as relações de superação identificadas na matriz de dominância agregada.

A Figura 6 mostra um extrato do gráfico *ELECTRE* para as relações de superação do conjunto *kernel* e os três primeiros grupos categorizados. Pode-se ver, pela Figura 6, que as alternativas do *kernel* superaram todas as outras: o grupo 1 foi superado apenas pelos elementos do *kernel*; os compostos do grupo 2 foram ultrapassados pelo *kernel* e pelo grupo 1; e assim por diante.

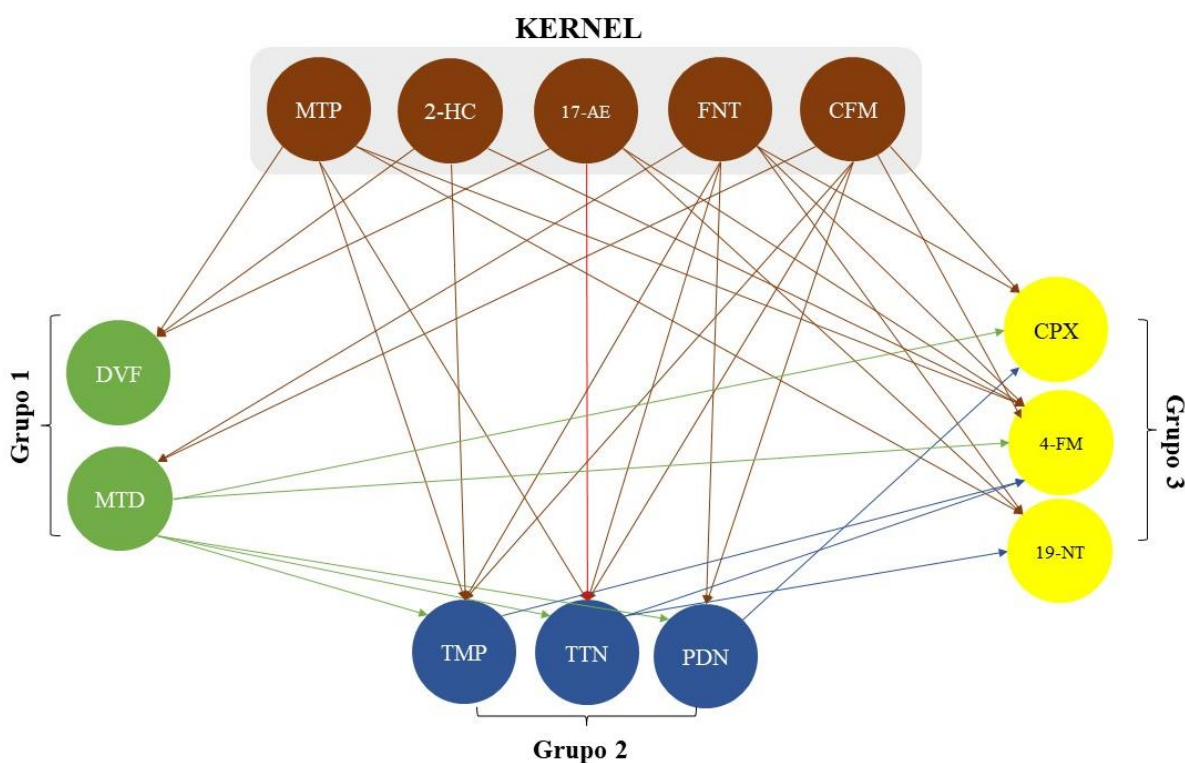


Figura 6. Representação do *kernel* e dos três primeiros grupos. Abreviaturas: metoclopramida (MTP), 2-hidroxicarbamazepina (2-HC), 17-alfa-estradiol (17-AE), fenacetina (FNT), ciclofosfamida (CFM), desvenlafaxina (DVF), metronidazol (MTD), trimetoprim (TMP), testosterona (TTN), primidona (PDN), ciprofloxacina (CPX), 4-formilaminoantipirina (4-FM), 19-nortestosterona (19-NT).

Os 5 compostos agrupados no conjunto do *kernel*, representando o grupo de alternativas que não foram superados por nenhum outro, são os fármacos e metabólitos, identificados pela triagem aplicada à matriz analisada, que apresentaram maior risco ambiental. Esses compostos são a fenacetina, ciclofosfamida, metoclopramida, 2-hidroxicarbamazepina e 17-alfa-estradiol.

A fenacetina é um fármaco introduzido em 1887, que possui atividade analgésica. Apesar de ser considerado um bom medicamento, estudos descobriram que pode ter efeitos tóxicos. Houve muitos relatos de casos de tumores pélvicos renais e outros tumores na uretra em pacientes que usaram grandes quantidades de analgésicos contendo fenacetina (*International Agency for Research on Cancer - IARC, 1987*). As predições *in silico* mostraram que a fenacetina é moderadamente persistente e móvel em água, biodegradável, não PBT, não ligante ao receptor de estrogênio, mutagênica e carcinogênica (de acordo com valores experimentais).

A ciclofosfamida é um agente antineoplásico amplamente utilizado em estabelecimentos de saúde dedicados ao tratamento do câncer. Embora tenha alguma seletividade tumoral, também possui um amplo espectro de toxicidades. Clinicamente, danos à bexiga, imunossupressão e alopecia são as toxicidades mais significativas associadas à ciclofosfamida. A cardiotoxicidade também é uma possibilidade quando são administradas doses muito altas (Fraiser et al., 1991). Além disso, estudos mostram que a ciclofosfamida apresenta baixa biodegradabilidade em estações de tratamento de esgoto que operam com sistemas aeróbicos, indicando que pode atingir corpos d'água (Kümmerer, 2001). As predições *in silico* mostraram que a ciclofosfamida é moderadamente persistente e móvel em água, não biodegradável, não PBT, não ligante ao receptor de estrogênio, mutagênica e carcinogênica (com base em valores experimentais).

A metoclopramida é um medicamento utilizado para problemas estomacais e esofágicos (Ponte & Nappi, 1981). A análise (*Q*)SAR previu que a metoclopramida é moderadamente móvel, persistente em água, não biodegradável, não PBT, não ligante ao receptor de estrogênio, mutagênica e carcinogênica (com base em valores experimentais).

O composto 2-hidroxicarbamazepina é um metabólito do medicamento anticonvulsivante carbamazepina, um dos principais fármacos utilizados no tratamento da epilepsia (Gierbolini et al., 2016). As predições *in silico* mostraram que a 2-

hidroxicarbamazepina é moderadamente persistente em água, ligeiramente móvel, não biodegradável, não PBT, não ligante ao receptor de estrogênio, mutagênica e carcinogênica (com baixa confiabilidade).

O fármaco 17-alfa-estradiol é indicado para o tratamento da alopecia androgenética, ou seja, queda de cabelo causada por fatores hormonais. Embora não seja um medicamento específico para o tratamento do câncer, essa substância também é utilizada em pacientes com essa condição, pois os procedimentos de quimioterapia tendem a desencadear a queda de cabelo (Kim et al., 2012). A análise (*Q*)SAR previu que o 17-alfa-estradiol é ligeiramente móvel, tem persistência moderada em água, não é biodegradável, não PBT, liga-se fortemente ao receptor de estrogênio (uma vez que é um hormônio estrogênico natural) e é não mutagênico e não cancerígeno (de acordo com os valores experimentais).

A Tabela 8 apresenta os compostos identificados organizados em grupos definidos com base na matriz de dominância agregada. Isso permite que o analista decida se deve selecionar apenas os compostos que fazem parte do *kernel*, ou adicionar um determinado número de grupos de compostos, de acordo com o foco e os recursos do estudo. Além do *kernel*, a priorização dos compostos pode ser realizada em ordem crescente de numeração atribuída aos grupos, dada pela superação de alguns grupos em relação a outros e, conseqüentemente, pela diminuição do risco ambiental. Subseqüentemente, uma análise quantitativa direcionada das amostras pode ser realizada, se desejado.

Dessa forma, análises, como o desenvolvimento de um método quantitativo ou a inclusão de compostos em programas de monitoramento, podem ser planejadas com base nos resultados dos compostos priorizados de acordo com os grupos formados. Por exemplo, se desejar desenvolver essas análises subseqüentes com um máximo de 20 compostos, deve-se selecionar o conjunto do *kernel* e os grupos 1, 2, 3 e 4 (Tabela 8).

Os resultados obtidos no teste de *Friedman* para comparar os agrupamentos obtidos para os três conjuntos de pesos usados no método *ELECTRE* (peso original: 1, 2 e 3; peso -0,5: 0,5, 1,5 e 2,5; peso +1: 2, 3 e 4) são apresentados nos Apêndices E e F. Não houve diferenças significativas (nível de confiança de 99%) entre os resultados, demonstrando a robustez do agrupamento e da técnica utilizada.

Tabela 8. Categorização dos compostos analisados em grupos, de acordo com os resultados do *ELECTRE*.

Composto	Grupo
Fenacetina	KERNEL
Ciclofosfamida	
Metoclopramida	
2-Hidroxicarbamazepina	
17- Alfa-estradiol	
Metronidazol	1
Desvenlafaxina	
Primidona	2
Testosterona	
Trimetoprim	
19- Nortestosterona	3
Ciprofloxacina	
4-Formilaminoantipirina	
L-Lisina	4
Metilprednisolona	
4-Acetamidoantipirina	
Flutamida	
Fluconazol	
THJ-2201	
Ondansetrom	
Levofloxacino	5
Ofloxacino	
Ritonavir	
Bezafibrato	
Ácido valproato	
7- Hidroxiquetiapina	6
Androstenediona	
Sulfametoxazol	
Hidromorfona	
Progesterona	
Carbamazepina	
Topiramato	
Ácido meclofenâmico	
Aceclidina	7
Cetobemidona	
Hidroxitesterona	
Nimesulida	
4-Aminoantipirina	
Orfenadrina	
Butilescopolamina	

Composto	Grupo
Femprocumona	
Adrenalona	
Gabapentina	
5-Ácido aminossalicílico	8
Sulfóxido de Albendazol	
Difenidramina	
1,3,7- Ácido trimetilúrico	
Norfenilefrina	
Ácido tranexâmico	
Acetaminofeno	9
4-Metilaminoantipirina	
Losartana	
Bufexamaco	
Salicilamida	
N-Methyl-2,3-dihydro-1H-inden-2-amine	
Ácido micofenólico	10
Cetamina	
Ácido Carboxílico Losartana	
17- Alfa-hidroxiprogesterona	
Diclofenaco	
Rosuvastatina	11
Fenilpiracetama	
Etenzamida	
Fenilefrina	
Propranolol	
Aciclovir	
Levetiracetam	
Piridoxina	12
Temazepam	
Metoxetamina	
Acetanilida	
Lidocaína	
Oxcarbazepina	
Atenolol	
2,5-Dimetoxianfetamina	13
Ácido de nicotina	
Petidina	
Naproxeno	
Cotinina	
Furosemida	
Metoxifenamina	14
1-Metilxantina	
Levopropilhexedrina	

Composto	Grupo
Pregabalina	
Carboxibuprofeno	
Hidrocodona	
Remifentanil	15
Metformina	
Ibuprofeno	
Practolol	
Apronalide	
Metoprolol	16
Piracetam	
Hidroclorotiazida	
Enalapril	
Guaifenesina	17
Metotrexato	
Etambutol	18
Teobromina	
Efedrina	
Pseudoefedrina	
Diazepam	19
Codeína	
Teofilina	
Cafeína	

A comparação dos resultados obtidos com o teste de sensibilidade para os compostos do *kernel* e dos grupos 1, 2, 3 e 4 está ilustrada na Figura 7. Destaca-se que os compostos agrupados no *kernel* e nos grupos 1 e 2 coincidem para todos os casos, com pequenas alterações apenas a partir do grupo 3. Além disso, o número total de grupos foi semelhante nos três agrupamentos (o *kernel* e mais 19 grupos para os resultados obtidos com o peso original e peso +1, e o *kernel* e mais 20 grupos para os resultados obtidos com peso -0,5).

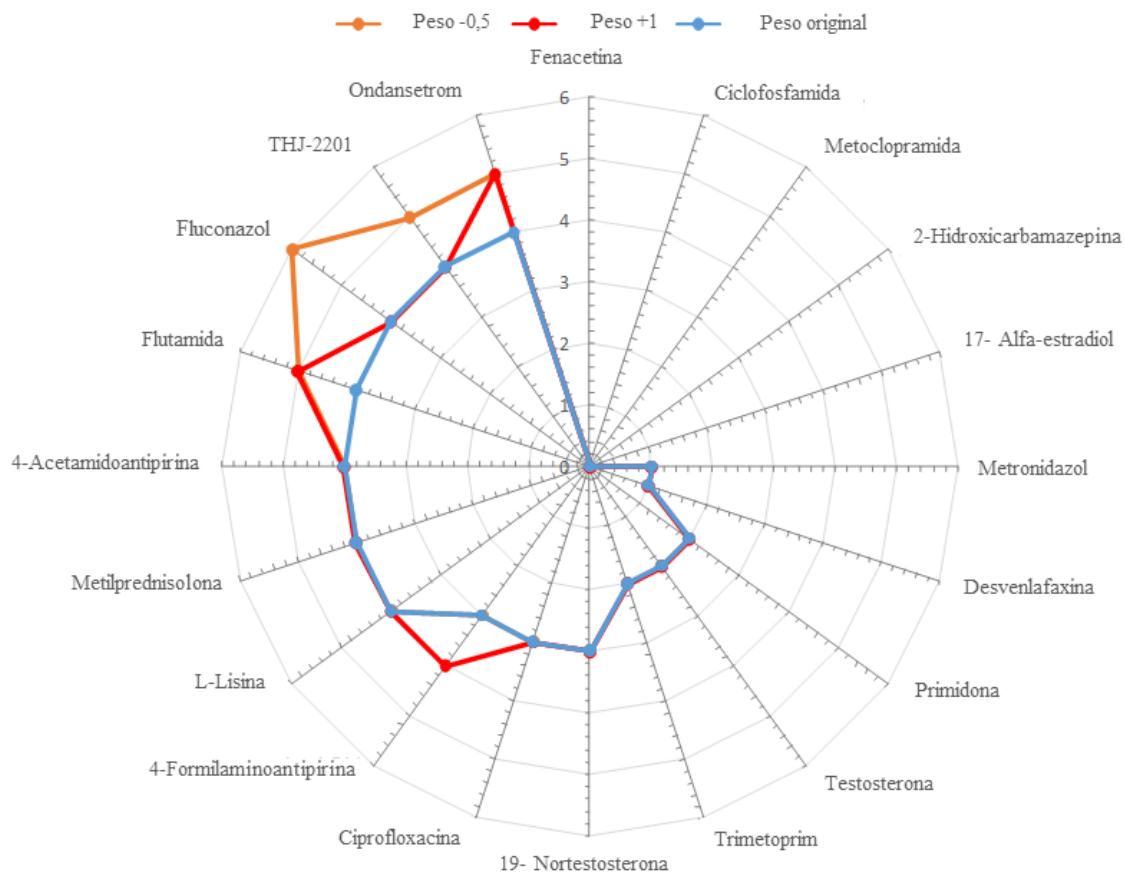


Figura 7. Comparação dos agrupamentos obtidos para os três conjuntos de pesos usados no teste de sensibilidade (peso original: 1, 2 e 3; peso -0,5: 0,5, 1,5 e 2,5; peso +1: 2, 3 e 4), para o *kernel* e os primeiros quatro grupos *ELECTRE*.

Esses resultados demonstraram que o método de categorização *ELECTRE* pode ser considerado uma ferramenta de tomada de decisão altamente intuitiva e robusta, permitindo o agrupamento de compostos, independente dos valores de pontuação. Desta forma, os grupos podem ser claramente diferenciados e são facilmente identificáveis a partir das relações de superação obtidas entre os compostos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização do método de triagem indicou a presença de um total de 105 fármacos e metabólitos (suspeitos ou confirmados) em uma amostra composta de efluente hospitalar. Desse total, 89% eram fármacos e 11% metabólitos. Esta análise de triagem foi realizada a partir do uso de um método alternativo de preparo de amostra que consistiu em uma etapa inicial de limpeza com sílica/alumina (50 mg/ 50 mg), seguida de *DLLME* usando 650 μ L de clorofórmio como solvente extrator e 1000 μ L de ACN como solvente de dispersão. Este método identificou o mesmo número de compostos quando comparado ao método de *SPE*, porém é mais rápido, fácil e barato que o método de *SPE*. Essa nova técnica de preparo de amostra foi aplicada na limpeza, extração e pré-concentração dos analitos de uma matriz complexa (efluente hospitalar), utilizando um volume de amostra reduzido, o que em muitas situações pode ser um fator limitante na seleção de um método de preparo. Além disso, quando utilizado em procedimentos de rotina, este preparo de amostras pode proporcionar um aumento da frequência analítica, redução de custos (especialmente quando comparado a *SPE*) e de tempo de execução, além da possibilidade de uso em laboratórios sem infraestrutura sofisticada.

As predições (*Q*)*SAR* podem ser usadas na avaliação de risco para proteger a saúde humana e ambiental, o que as torna interessantes para o monitoramento ambiental, especialmente na ausência de dados experimentais. O uso de ferramentas (*Q*)*SAR* possibilitou realizar predições *in silico* muito mais rápidas, em comparação com ensaios *in vitro* ou *in vivo*, para oito parâmetros. Esses parâmetros foram utilizados como dados de entrada para aplicação do método de decisão multicritério *ELECTRE*, a fim de sobreclassificar os compostos identificados de acordo com a superação apresentada por cada um deles em relação aos demais analitos identificados. Os resultados do método permitiram a identificação dos analitos com maior prioridade em termos de riscos ambientais, agrupados no *kernel*, com 5 compostos, e outros 19 grupos.

O uso de técnicas de análise de decisão multicritério na área ambiental e de análises de monitoramento ainda é raro, embora as diferentes técnicas tenham muitas aplicações potenciais. No presente estudo, o uso pioneiro do *ELECTRE* permitiu a seleção dos fármacos e metabólitos que devem ser levados em consideração em potenciais análises quantitativas subsequentes devido ao seu risco ambiental comparativamente mais alto. O teste de sensibilidade da estratégia proposta demonstrou

que o método foi robusto, principalmente em relação aos compostos do *kernel* e grupos 1, 2 e 3.

Por fim, este estudo destaca que os resultados de uma análise de triagem devem ser associados a outras técnicas, como *(Q)SAR*, para que os potenciais riscos ambientais e à saúde humana dos analitos identificados possam ser conhecidos. Com base nesses dados, pode ser feita uma seleção de compostos, a fim de desenvolver um método quantitativo que seja direcionado, dinâmico (porque pode ser ajustado periodicamente, conforme indicado por análises qualitativas e previsões baseadas na *(Q)SAR*, para uso em monitoramentos posteriores), e útil para determinar os compostos que apresentam os maiores riscos ao meio ambiente e à saúde humana.

REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abramenko, N., Kustov, L., Metelytsia, L., Kovalishyn, V., Tetko, I., & Peijnenburg, W. A review of recent advances towards the development of QSAR models for toxicity assessment of ionic liquids. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 384, 121429. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121429>.
- Achillas, C., Vlachokostas, C., Moussiopoulos, N., & Baniyas, G. Prioritize strategies to confront environmental deterioration in urban areas: Multicriteria assessment of public opinion and experts' views. *Cities*, 2011, 28(5), 414-423. <https://doi.org/10.1016/j.cities.2011.04.003>.
- Afsa, S., Hamden, K., Lara Martin, P. A., & Mansour, H. Ben. Occurrence of 40 pharmaceutically active compounds in hospital and urban wastewaters and their contribution to Mahdia coastal seawater contamination. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(2), 1941-1955. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06866-5>.
- Alvarez, P. A., Ishizaka, A., & Martínez, L. Multiple-criteria decision-making sorting methods: A survey. *Expert Systems with Applications*, 2021, 183, 115368. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2021.115368>.
- Amaral, B. do. Avaliação do método QuEChERS para extração de contaminantes de preocupação emergente em diferentes matrizes ambientais. 2018. 171 p. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Aminot, Y., Fuster, L., Pardon, P., Le Menach, K., & Budzinski, H. Suspended solids moderate the degradation and sorption of waste water-derived pharmaceuticals in estuarine waters. *Science of the Total Environment*, 2018, 612, 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.162>.
- Asghar, M. A., Zhu, Q., Sun, S., Peng, Y., & Shuai, Q. Suspect screening and target quantification of human pharmaceutical residues in the surface water of Wuhan, China, using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. *Science of the Total Environment*, 2018, 635, 828-837. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.179>.
- aus der Beek, T., Weber, F.-A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A., & Küster, A. Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and

- perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2016, 35(4), 823-835. <https://doi.org/10.1002/etc.3339>.
- Azhar, N. A., Asyikin, N., Radzi, M., Siti, W., & Munirah, H. Multi-criteria Decision Making: A Systematic Review Recent Advances in Electrical & Electronic Engineering. 2021, 14(8), 779-801. <https://doi.org/10.2174/2352096514666211029112443>.
- Azizan, N. A. Z., Yuzir, A., & Abdullah, N. Pharmaceutical compounds in anaerobic digestion: A review on the removals and effect to the process performance. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(5), 105926. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105926>.
- Bade, R., Rousis, N. I., Bijlsma, L., Gracia-Lor, E., Castiglioni, S., Sancho, J. V., & Hernandez, F. Screening of pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater and surface waters of Spain and Italy by high resolution mass spectrometry using UHPLC-QTOF MS and LC-LTQ-Orbitrap MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(30), 8979-8988. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9063-x>.
- Bade, R. T. D. N. Advanced analytical tools for the investigation of licit and illicit drug residues in water. 2016. 326 p. Tese de Doutorado - Instituto Universitario de Plaguicidas y Aguas, Departament de Química Física i Analítica. Universitat Jaume I, Castellón.
- Becker, R. W., Ibáñez, M., Cuervo, E., Luís, M., Flores, T., Hernández, F., & Sirtori, C. Investigation of pharmaceuticals and their metabolites in Brazilian hospital wastewater by LC-QTOF MS screening combined with a preliminary exposure and in silico risk assessment. *Science of the Total Environment*, 2020a, 699, 134218. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134218>.
- Becker, R. W., Jachstet, L. A., Dallegrave, A., Ruiz-Padillo, A., Zanella, R., & Sirtori, C. Multi-criteria decision-making techniques associated with (Q)SAR risk assessment for ranking surface water microcontaminants identified using LC-QTOF MS. *Science of the Total Environment*, 2021, 797, 149002. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149002>.
- Becker, R. W., Wilde, M. L., Araújo, D. S., Lüdtke, D. S., & Sirtori, C. Proposal of a new, fast, cheap, and easy method using DLLME for extraction and preconcentration of diazepam and its transformation products generated by a solar photo-Fenton

- process. *Water Research*, 2020b, 184, 116183.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116183>.
- Bertrand-Krajewski, J. L., Bournique, R., Lecomte, et. al. SIPIBEL observatory: Data on usual pollutants (solids, organic matter, nutrients, ions) and micropollutants (pharmaceuticals, surfactants, metals), biological and ecotoxicity indicators in hospital and urban wastewater, in treated effluent and sludge from. *Data in Brief*, 2022, 40, 107726. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107726>.
- Biziuk, M. Solid Phase Extraction Technique - Trends, Opportunities and Applications. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2006, 15(5), 677-690.
- Boethling, R. S., & Costanza, J. Domain of EPI suite biotransformation models. SAR and QSAR in Environmental Research, 2010, 21(5-6), 415-443.
<https://doi.org/10.1080/1062936X.2010.501816>.
- Bouzas-Monroy, A., Wilkinson, J. L., Melling, M., & Boxall, A. B. A. Assessment of the Potential Ecotoxicological Effects of Pharmaceuticals in the World's Rivers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2022, 41(8), 2008-2020.
<https://doi.org/10.1002/etc.5355>.
- Brasil. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Agência Nacional de Águas. Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas. Brasília, 2017. Disponível em: <https://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/ATLASeESGOTOSDespoluicaoodeBaciasHidrograficas-ResumoExecutivo_livro.pdf>. Acesso em: 30 de ago. de 2022.
- Caldas, S. S., Costa, F. P., & Primel, E. G. Validation of method for determination of different classes of pesticides in aqueous samples by dispersive liquid-liquid microextraction with liquid chromatography-tandem mass spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 665(1), 55-62.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.03.004>.
- Caldas, S. S., Gonçalves, F. F., Primel, E. G., Prestes, O. D., Martins, M. L., & Zanella, R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. *Química Nova*, 2011, 34(9), 1604-1617.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000900021>.
- Caldwell, D. J., Mastrocco, F., Margiotta-casaluci, L., & Brooks, B. W. An integrated

- approach for prioritizing pharmaceuticals found in the environment for risk assessment, monitoring and advanced research. *Chemosphere*, 2014, 115, 4-12. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.021>.
- Campos-Mañas, M. C., Cuevas, S. M., Ferrer, I., Thurman, E. M., Sánchez-Perez, J. A., & Agüera, A. Determination of dextromethorphan and dextrorphan solar photo-transformation products by LC/Q-TOF-MS: Laboratory scale experiments and real water samples analysis. 2020, 265, 114722. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114722>.
- Cardoso, R. M., Becker, R. W., Jachstet, L. A., Scunderlick, D., Dallegrave, A., Ruiz-Padillo, A., & Sirtori, C. Qualitative evaluation of pharmaceuticals and metabolites in hospital effluent: Influence of sample preparation technique and outranking by environmental risk using the ELECTRE method. *Science of The Total Environment*, 2022, 834, 155119. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155119>.
- Cardoso, R. M., Dallegrave, A., Becker, R. W., Araújo, D. S., & Sirtori, C. Economically feasible strategy for confirmation of pharmaceuticals in hospital effluent using screening analysis. *Analytical Methods*, 2020, 12(38), 4691-4697. <https://doi.org/10.1039/d0ay01397h>.
- Castro-Pastrana, L. I., Cerro-López, M., Toledo-Wall, M. L., Gómez-Oliván, L. M., & Saldívar-Santiago, M. D. Análisis de fármacos en aguas residuales de tres hospitales de la ciudad de Puebla, México. *Ingeniería Del Agua*, 2021, 25(1), 59. <https://doi.org/10.4995/ia.2021.13660>.
- Čelić, M., Jaén-Gil, A., & Briceño-Guevara, S. Extended suspect screening to identify contaminants of emerging concern in riverine and coastal ecosystems and assessment of environmental risks. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 404, 124102. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124102>.
- Celiz, M. D., Tso, J., & Aga, D. S. Pharmaceutical metabolites in the environment: Analytical challenges and ecological risks. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009, 28(12), 2473-2484. <https://doi.org/10.1897/09-173.1>.
- Chatterjee, M., & Roy, K. Recent Advances on Modelling the Toxicity of Environmental Pollutants for Risk Assessment: from Single Pollutants to Mixtures. *Current Pollution Reports*, 2022, 8, 81-97. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s40726-022-00219-6>.

- Chen, H., & Ding, W. Determination of aqueous fullerene aggregates in water by ultrasound-assisted dispersive liquid - liquid microextraction with liquid chromatography - atmospheric pressure photoionization-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1223, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.12.034>.
- Chiaradia, M. C., Collins, C. H., & Jardim, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. *Quimica Nova*, 31(3), 623-636. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000300030>.
- Clark, B., Henry, G. L. H., & Mackay, D. Fugacity analysis and model of organic chemical fate in a sewage treatment plant. *Environ. Sci. Technol*, 1995, 29(6), 1488-1494. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/es00006a009>.
- Coimbra, R. N., Escapa, C., & Otero, M. Removal of pharmaceuticals from water: Conventional and alternative treatments. *Water (Switzerland)*, 2021, 13(4), 1-6. <https://doi.org/10.3390/w13040487>.
- Comissão Europeia. Diretiva 2008/105/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de Dezembro de 2008 relativa a normas de qualidade ambiental no domínio da política da água, que altera e subsequentemente revoga as Diretivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE e 86/280/CEE do Conselho, e que altera a Diretiva 2000/60/CE. *Jornal Oficial Da União Europeia*. 2008. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex%3A32008L0105>>. Acesso em 30 de ago. de 2022.
- Comissão Europeia. Diretiva 2013/39/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 12 de agosto de 2013 que altera as Diretivas 2000/60/CE e 2008/105/CE no que respeita às substâncias prioritárias no domínio da política da água. *Jornal Oficial Da União Europeia*. 2013. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013L0039&from=bg>>. Acesso em 30 de ago. de 2022.
- Comissão Europeia. Decisão de Execução (UE) 2018/840 da Comissão de 5 de Junho de 2018 que estabelece uma lista de vigilância das substâncias a monitorizar a nível da União no domínio da política da água, nos termos da Diretiva 2008/105/CE do Parlamento Europeu e do Consel. *Jornal Oficial Da União Europeia*. 2018.

Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018D0840&from=EN>>. Acesso em 30 de ago. de 2022.

Comissão Europeia. Decisão de Execução (EU) 2020/1161 da Comissão de 4 de agosto de 2020 que estabelece uma lista de vigilância das substâncias a monitorizar a nível da União no domínio da política da água, nos termos da Diretiva 2008/105/CE do Parlamento Europeu e do Conse. *Jornal Oficial Da União Europeia*. 2020. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32020D1161&from=PT>>. Acesso em 30 de ago. de 2022.

Cunha, D. G. F., Calijuri, M. do C., Lamparelli, M. C., & Júnior, N. M. Resolução CONAMA 357/2005: análise espacial e temporal de não conformidades em rios e reservatórios do estado de São Paulo de acordo com seus enquadramentos (2005 - 2009). 2009, 18(2) 159-168.

Daughton, C. G. Chapter 1 - Pharmaceuticals in the environment: sources and their management. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 2007, 50, 1-58. [https://doi.org/10.1016/S0166-526X\(07\)50001-2](https://doi.org/10.1016/S0166-526X(07)50001-2).

Daughton, C. G. Chapter 2 - Pharmaceuticals in the environment: Sources and their management. In *Comprehensive Analytical Chemistry*. 2013, 62, 37-69. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62657-8.00002-1>.

de Almeida, C. A. A., Oliveira, M. S., Mallmann, C. A., & Martins, A. F. Determination of the psychoactive drugs carbamazepine and diazepam in hospital effluent and identification of their metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(21), 17192-17201. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4948-y>.

Diaz, R., Ibáñez, M., Sancho, J. V., & Hernández, F. Qualitative validation of a liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry screening method for organic pollutants in waters. *Journal of Chromatography A*, 2013,1276, 47-57. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.12.030>.

dos Santos, C. E. M., & Nardocci, A. C. Prioritization of pharmaceuticals in drinking water exposure based on toxicity and environmental fate assessment by in silico tools: An integrated and transparent ranking. *Computational Toxicology*, 2019, 9, 12-21. <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2018.10.005>.

- Ebele, A. J., Abou-Elwafa Abdallah, M., & Harrad, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 2017, 3(1), 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004>.
- Filippou, O., Bitas, D., & Samanidou, V. Green approaches in sample preparation of bioanalytical samples prior to chromatographic analysis. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2017, 1043, 44-62. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.08.040>.
- Fraiser, L. H., Kanekal, S., & Kehrer, J. P. Cyclophosphamide Toxicity Characterising and Avoiding the Problem. 1991, 42(5), 781-795.
- Freitas, L. de A. A., & Radis-Baptista, G. Pharmaceutical Pollution and Disposal of Expired, Unused, and Unwanted Medicines in the Brazilian Context. *Journal of Xenobiotics*, 2021, 11(2), 61-76. <https://doi.org/10.3390/jox11020005>.
- Gierbolini, J. R., Pharmad, M. G., & Benbadis, S. R. (2016). Expert Opinion on Pharmacotherapy Carbamazepine-related antiepileptic drugs for the treatment of epilepsy - a comparative review. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 2016, 17(7), 885-888. <https://doi.org/10.1517/14656566.2016.1168399>.
- González-González, R. B., Sharma, P., Singh, S. P., Américo-Pinheiro, J. H. P., Parra-Saldívar, R., Bilal, M., & Iqbal, H. M. N. Persistence, environmental hazards, and mitigation of pharmaceutically active residual contaminants from water matrices. *Science of the Total Environment*, 2022, 821, 153329. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153329>.
- Graziano, M. J., & Jacobson-Kram, D. (Eds.). *Genotoxicity and carcinogenicity testing of pharmaceuticals*. Springer International Publishing, 2015. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-22084-0>.
- Gumbi, B. P., Moodley, B., Birungi, G., & Ndungu, P. G. (2022). Risk Assessment of Personal Care Products, Pharmaceuticals, and Stimulants in Mgeni and Msunduzi Rivers, KwaZulu-Natal, South Africa. *Frontiers in Water*, 2022, 4, 1-15. <https://doi.org/10.3389/frwa.2022.867201>.
- Gworek, B., Kijewska, M., Zaborowska, M., Wrzosek, J., Tokarz, L., & Chmielewski, J. Occurrence of pharmaceuticals in aquatic environment-a review. *Desalination and Water Treatment*, 2020, 184, 375-387. <https://doi.org/10.5004/dwt.2020.25325>.

- Hameedat, F., Hawamdeh, S., Alnabulsi, S., & Zayed, A. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Fluorescence Detection for Quantification of Steroids in Clinical, Pharmaceutical, and Environmental Samples: A Review. *Molecules*, 2022, 27, 1807.
- Herecegová, A., Dömötöröová, M., & Matisová, E. Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1153(1-2), 54-73. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.008>.
- Hernández-Tenorio, R., Guzmán-Mar, J. L., Hinojosa-Reyes, L., Ramos-Delgado, N., & Hernández-Ramírez, A. Determination of pharmaceuticals discharged in wastewater from a public hospital using lc-ms/ms technique. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 2021, 65(1), 94-108. <https://doi.org/10.29356/jmcs.v65i1.1439>.
- Hernández, F., Bakker, J., Bijlsma, L., Boer, J. de, Botero-Coy, A. M., Bruin, Y. B. de, Fischer, S., Hollender, J., Kasprzyk-Hordern, B., Lamoree, M., Lopez, F. J., Laak, T. L. ter, Leerdam, J. A. van, Sancho, J. V., Schymanski, E. L., Voogt, P. de, & Hogendoorn, E. A. The role of analytical chemistry in exposure science: Focus on the aquatic environment. *Chemosphere*, 2019a, 222, 564-583. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.118>.
- Hernández, F., Calisto-ulloa, N., Gómez-fuentes, C., Gómez, M., & Ferrer, J. (2019). Occurrence of antibiotics and bacterial resistance in wastewater and sea water from the Antarctic. *Journal of Hazardous Materials*, 2019b, 363, 447-456. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.027>.
- Hernández, F., Ibáñez, M., Botero-Coy, A. M., Bade, R., Bustos-López, M. C., Rincón, J., Moncayo, A., & Bijlsma, L. LC-QTOF MS screening of more than 1,000 licit and illicit drugs and their metabolites in wastewater and surface waters from the area of Bogotá, Colombia. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(21), 6405-6416. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8796-x>.
- Hernández, F., Ibáñez, M., Gracia-Lor, E., & Sancho, J. V. Retrospective LC-QTOF-MS analysis searching for pharmaceutical metabolites in urban wastewater. *Journal of Separation Science*, 2011, 34(24), 3517-3526. <https://doi.org/10.1002/jssc.201100540>.
- Ibáñez, M., Bijlsma, L., Pitarch, E., López, F. J., & Hernández, F. Trends in

- Environmental Analytical Chemistry Occurrence of pharmaceutical metabolites and transformation products in the aquatic environment of the Mediterranean area. 2021, 29, e00118. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2021.e00118>.
- Ibáñez, M., Borova, V., Boix, C., Aalizadeh, R., Bade, R., Thomaidis, N. S., & Hernández, F. UHPLC-QTOF MS screening of pharmaceuticals and their metabolites in treated wastewater samples from Athens. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 323, 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.078>.
- International Agency for Research on Cancer - IARC. *Iarc Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Humans. Genetic and related effects: An updating of selected IARC monographs from Volumes 1 to 42*. Lyon, France: IARC, 1987.
- Jardim, I. C. S. F. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. *Scientia Chromatographica*, 2010, 2(1), 13-25.
- Kayiwa, R., Kasedde, H., Lubwama, M., Kirabira, J. B., & Kayondo, T. Occurrence and toxicological assessment of selected active pharmaceutical ingredients in effluents of pharmaceutical manufacturing plants and wastewater treatment plants in Kampala, Uganda. *Water Practice and Technology*, 2022, 17(4), 852-869. <https://doi.org/10.2166/wpt.2022.024>.
- Khan, K., Benfenati, E., & Roy, K. Ecotoxicology and Environmental Safety Consensus QSAR modeling of toxicity of pharmaceuticals to different aquatic organisms: Ranking and prioritization of the DrugBank database compounds. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 168, 287-297. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.10.060>.
- Khan, N. A., Vambol, V., Vambol, S., Bolibrukh, B., Sillanpaa, M., Changani, F., Esrafil, A., & Yousefi, M. Hospital effluent guidelines and legislation scenario around the globe: A critical review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(5), 105874. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105874>.
- Khasawneh, O. F. S., & Palaniandy, P. Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants. *Process Safety and Environmental Protection*, 2021, 150, 532-556. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.04.045>.
- Kim, J. H., Lee, S. Y., Lee, H. J., Yoon, N. Y., & Lee, W. S. The efficacy and safety of 17 α -estradiol (Eli-Cranell® alpha 0.025%) solution on female pattern hair loss: single center, open-label, non-comparative, phase IV study. *Annals of dermatology*,

2012, 24(3), 295-305.

Kodom, K., Attiogbe, F., & Kuranchie, F. A. Assessment of removal efficiency of pharmaceutical products from wastewater in sewage treatment plants: A case of the sewerage systems Ghana limited, Accra. *Heliyon*, 2021, 7(11), e08385. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08385>.

Kole, P. L., Venkatesh, G., Kotecha, J., & Sheshala, R. Recent advances in sample preparation techniques for effective bioanalytical methods. *Biomedical Chromatography*, 2011, 25(1), 199-217. <https://doi.org/10.1002/bmc.1560>.

Korkmaz, N. E., Aksu, A., Burak, S., & Balkis, N. Science of the Total Environment Occurrence, sources and environmental risk assessment of pharmaceuticals in the Sea of Marmara, Turkey. *Science of The Total Environment*, 2022, 819, 152996. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.152996>.

Kosma, C. I., Kapsi, M. G., Konstas, P. S. G., Trantopoulos, E. P., Boti, V. I., Konstantinou, I. K., & Albanis, T. A. Assessment of multiclass pharmaceutical active compounds (PhACs) in hospital WWTP influent and effluent samples by UHPLC-Orbitrap MS: Temporal variation, removals and environmental risk assessment. *Environmental Research*, 2020, 191, 110152. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110152>.

Kovalova, L., Siegrist, H., Von Gunten, U., Eugster, J., Hagenbuch, M., Wittmer, A., Moser, R., & McArdell, C. S. Elimination of micropollutants during post-treatment of hospital wastewater with powdered activated carbon, ozone, and UV. *Environmental Science and Technology*, 2013, 47(14), 7899-7908. <https://doi.org/10.1021/es400708w>.

Kumar, A., Lakshmi, M. N., Gokul, P., Kumar, A., Kasi, M., Singh, C., Selvin, J., & Muthu, M. S. Fast and highly efficient liquid chromatographic methods for qualification and quantification of antibiotic residues from environmental waste. *Microchemical Journal*, 2022, 179, 107573. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107573>.

Kümmerer, K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources: a review. *Chemosphere*, 2001, 45, 957-969.

Lanças, F. M. *Extração em Fase Sólida (SPE)*. São Carlos: RiMa, 2004.

- Lanças, F. M. *Cromatografia líquida moderna - HPLC/CLAE*. Campinas: Átomo, 2009.
- Leite, F. (2002). *Validação em análise química*. Átomo, 2002.
- Li, Y., Zhang, L., Ding, J., & Liu, X. Prioritization of pharmaceuticals in water environment in China based on environmental criteria and risk analysis of top-priority pharmaceuticals. *Journal of Environmental Management*, 2020, 253, 109732. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109732>.
- Mackull'ak, T., Cverenkárová, K., Staňová, A. V., Fehér, M., Tamáš, M., Škulcová, A. B., Gál, M., Naumowicz, M., Špalková, V., & Bírošová, L. Hospital wastewater-source of specific micropollutants, antibiotic-resistant microorganisms, viruses, and their elimination. *Antibiotics*, 2021, 10(9), 1-14. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091070>.
- Madikizela, L. M., Nuapia, Y. B., Chimuka, L., Ncube, S., & Etale, A. Target and Suspect Screening of Pharmaceuticals and their Transformation Products in the Klip River, South Africa, using Ultra-High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2022, 41(2), 437-447. <https://doi.org/10.1002/etc.5265>.
- Mansour, F., Al-hindi, M., Saad, W., & Salam, D. Environmental risk analysis and prioritization of pharmaceuticals in a developing world context. *Science of the Total Environment*, 2016, 557-558, 31-43. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.023>.
- Martins, M. L., Primel, E. G., Caldas, S. S., Prestes, O. D., Adaime, M. B., & Zanella, R. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. *Scientia Chromatographica*, 2012, 4(1), 35-51.
- Melo, S. A. S., Trovó, A. G., Bautitz, I. R., & Nogueira, R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Química Nova*, 2009, 32(1), 188-197. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100034>.
- Michael, I., Rizzo, L., Mc Ardell, C. S., Manaia, C. M., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., & Fatta-Kassinos, D. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review. *Water Research*, 2013, 47(3), 957-995. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.11.027>.
- Montagner, C. C. Contaminantes emergentes em água tratada e seus mananciais:

- sazonalidade, remoção e atividade estrogênica. 2011. 172 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Univeridade de Campinas, Campinas.
- Montagner, C. C., Vidal, C., & Acayaba, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. *Quimica Nova*, 2017, 40(9), 1094-1110. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170091>.
- Mzukisi, L., Ncube, S., Tutu, H., Richards, H., Newman, B., Ndungu, K., & Chimuka, L. Trends in Environmental Analytical Chemistry Pharmaceuticals and their metabolites in the marine environment: Sources, analytical methods and occurrence. *Biochemical Pharmacology*, 2020, 28, e00104. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00104>.
- Noguera-Oviedo, K., & Aga, D. S. Lessons learned from more than two decades of research on emerging contaminants in the environment. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 316, 242-251. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.058>.
- Oltean-Dumbrava, C., Watts, G., & Miah, A. Transport infrastructure: Making more sustainable decisions for noise reduction. *Journal of Cleaner Production*, 2013, 42, 58-68. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.10.008>.
- Omotola, E. O., Oluwole, A. O., Oladoye, P. O., & Olatunji, O. S. Occurrence, detection and ecotoxicity studies of selected pharmaceuticals in aqueous ecosystems- a systematic appraisal. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2022, 91, 103831. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103831>.
- Papagiannaki, D., Belay, M. H., Gonçalves, N. P. F., Robotti, E., Bianco-prevot, A., Binetti, R., & Calza, P. From monitoring to treatment , how to improve water quality: The pharmaceuticals case. *Chemical Engineering Journal Advances*, 2022, 10, 100245. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.100245>.
- Park, N., & Jeon, J. Chemosphere Emerging pharmaceuticals and industrial chemicals in Nakdong River, Korea: Identification, quantitative monitoring, and prioritization. *Chemosphere*, 2021, 263, 128014. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128014>.
- Paszkiwicz, M., Godlewska, K., Lis, H., Caban, M., Bia, A., & Stepnowski, P. Trends in Analytical Chemistry Advances in suspect screening and non-target analysis of polar emerging contaminants in the environmental monitoring. 2022, 154, 116671.

- <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116671>.
- Pavan, M., & Worth, A. P. Review of estimation models for biodegradation. *QSAR and Combinatorial Science*, 2008, 27(1), 32-40. <https://doi.org/10.1002/qsar.200710117>.
- Pedroso, R. C. R., Peralba, M. do C. R., Santos, J. H. Z. dos, & Pizzolato, T. M. Desenvolvimento de métodos de análise por CLAE-UV para os antimicrobianos tetraciclina, sulfametoxazol e trimetoprima utilizando materiais à base de sílica como sistemas de pré-concentração. *Química Nova*, 2011, 34(2), 206-212. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000200007>.
- Pelissari, R., Celia, M., Abackerli, A. J., Ben-amor, S., Rita, M., & Assumpc, P. Techniques to model uncertain input data of multi-criteria decision-making problems: a literature review. *International Transactions in Operational Research*, 2021, 28, 523-559. <https://doi.org/10.1111/itor.12598>.
- Picó, Y., Campo, J., Alfarhan, A. H., El-sheikh, M. A., & Barceló, D. A reconnaissance study of pharmaceuticals, pesticides, perfluoroalkyl substances and organophosphorus flame retardants in the aquatic environment, wild plants and vegetables of two Saudi Arabia urban areas: Environmental and human health risk assessment. *Science of the Total Environment*, 2021, 776, 145843. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145843>.
- Pirard, C., Focant, J. F., & De Pauw, E. An improved clean-up strategy for simultaneous analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), polychlorinated dibenzofurans (PCDF), and polychlorinated biphenyls (PCB) in fatty food samples. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 2002, 372(2), 373-381. <https://doi.org/10.1007/s00216-001-1181-y>.
- Pizzo, F., Lombardo, A., Manganaro, A., Cappelli, C. I., Petoumenou, M. I., Albanese, F., Roncaglioni, A., Brandt, M., & Benfenati, E. Integrated in silico strategy for PBT assessment and prioritization under REACH. *Environmental Research*, 2016, 151, 478-492. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.08.014>.
- Pomerol, J.-C., & Barba-Romero, S. *Multicriterion decision in management: principles and practice*. Springer Science & Business Media, 2000.
- Ponte, C. D., & Nappi, J. M. (1981). Review of a new gastrointestinal drug - metoclopramide. *Am J Hosp Pharm*, 1981, 38(6), 829-833.

- Prestes, O. D., Friggi, C. A., Adaime, M. B., & Zanella, R. QuEChERS - Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. *Quimica Nova*, 2009, 32(6), 1620-1634. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600046>.
- Rezaee, M., Assadi, Y., Milani Hosseini, M. R., Aghaee, E., Ahmadi, F., & Berijani, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1116(1-2), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007>.
- Rice, J., Proctor, K., Lopardo, L., Evans, S., & Kasprzyk-Hordern, B. Stereochemistry of ephedrine and its environmental significance: Exposure and effects directed approach. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 348, 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.01.020>.
- Rim, K. T. In silico prediction of toxicity and its applications for chemicals at work. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 2020, 12(3), 191-202. <https://doi.org/10.1007/s13530-020-00056-4>.
- Roncaglioni, A., Toropov, A. A., Toropova, A. P., & Benfenati, E. In silico methods to predict drug toxicity. *Current Opinion in Pharmacology*, 2013, 13(5), 802-806. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2013.06.001>.
- Roy, B. Classement et choix en présence de points de vue multiples. *R.I.R.O.*, 1968, 2(8), 57-75.
- Ruiz-Padillo, A., Ruiz, D. P., Torija, A. J., & Ramos-Ridao, Á. Selection of suitable alternatives to reduce the environmental impact of road traffic noise using a fuzzy multi-criteria decision model. *Environmental Impact Assessment Review*, 2016, 61, 8-18. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2016.06.003>.
- Sajid, M. Trends in Analytical Chemistry Dispersive liquid-liquid microextraction: Evolution in design, application areas, and green aspects. *Trends in Analytical Chemistry*, 2022, 152, 116636. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116636>.
- Sangion, A., & Gramatica, P. PBT assessment and prioritization of contaminants of emerging concern: Pharmaceuticals. *Environmental Research*, 2016, 147, 297-306. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.02.021>.

- Santos, C. E. M. dos, & Rodrigues, A. S. Toxicologia in silico: contexto de aplicação e o modelo de custo-efetividade nos testes alternativos. *RevInter Revista de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, 2011, 92-113. <http://www.revistarevinter.com.br/autores/index.php/toxicologia/article/viewFile/97/312>.
- Schriks, M., Heringa, M. B., van der Kooi, M. M. E., de Voogt, P., & van Wezel, A. P. Toxicological relevance of emerging contaminants for drinking water quality. *Water Research*, 2010, 44(2), 461-476. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.08.023>
- Schultz, T. ER binding. 2011.
- Senta, I., Kostanjevecki, P., Krizman-matasic, I., Terzic, S., & Ahel, M. Occurrence and Behavior of Macrolide Antibiotics in Municipal Wastewater Treatment: Possible Importance of Metabolites, Synthesis Byproducts, and Transformation Products. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53, 7463-7472. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01420>.
- Silori, R., & Tauseef, S. M. A Review of the Occurrence of Pharmaceutical Compounds as Emerging Contaminants in Treated Wastewater and Aquatic Environments. *Current Pharmaceutical Analysis*, 2022, 18(4), 345-379. <https://doi.org/10.2174/1573412918666211119142030>.
- Smith, L. M., Stalling, D. L., & Johnson, J. L. Determination of Part-per-Trillion Levels of Polychlorinated Dibenzofurans and Dioxins in Environmental Samples. *Analytical Chemistry*, 1984, 56(11), 1830-1842. <https://doi.org/10.1021/ac00275a018>.
- Smith, R. M. Before the injection - Modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1000(1-2), 3-27. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00511-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00511-9)
- Snyder, L. R., & Kirkland, J. J. *Introduction to Modern Liquid chromatography*. 1979.
- Souza, D. M., Reichert, J. F., & Martins, A. F. A simultaneous determination of anti-cancer drugs in hospital effluent by DLLME HPLC-FLD, together with a risk assessment. *Chemosphere*, 2018, 201, 178-188. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.164>.
- Souza, F. S., & F, L. A. Hospital and Municipal Wastewater: Identification of Relevant

Pharmaceutical Compounds. 2016, 871-877.
<https://doi.org/10.2175/106143016X14609975747603>.

Stieber, M., Putschew, A., & Jekel, M. Treatment of pharmaceuticals and diagnostic agents using zero-valent iron - Kinetic studies and assessment of transformation products assay. *Environmental Science and Technology*, 2011, 45(11), 4944-4950.
<https://doi.org/10.1021/es200034j>.

Suarez, S., Lema, J. M., & Omil, F. Bioresource Technology Pre-treatment of hospital wastewater by coagulation - flocculation and flotation. *Bioresource Technology*, 2009, 100(7), 2138-2146. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.015>.

Tambosi, J. L. Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento. 2008. 141 p. Tese (doutorado) - Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Thomas, P. C., Bicherel, P., & Bauer, F. J. How In Silico and QSAR Approaches Can Increase Confidence in Environmental Hazard and Risk Assessment. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 2019, 15(1), 40-50.
<https://doi.org/10.1002/ieam.4108>.

Thomas, K. V., da Silva, F. M. A., Langford, K. H., de Souza, A. D. L., Nizzeto, L., & Waichman, A. V. Screening for selected human pharmaceuticals and cocaine in the urban streams of Manaus, Amazonas, Brazil. *Journal of the American Water Resources Association*, 2014, 50(2), 302-308. <https://doi.org/10.1111/jawr.12164>.

Verlicchi, P. Trends, new insights and perspectives in the treatment of hospital effluents. *Current Opinion in Environmental Science and Health*, 2021, 19, 100217.
<https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.10.005>.

Verlicchi, P., Galletti, A., Petrovic, M., & Barceló, D. Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options. *Journal of Hydrology*, 2010, 389(3-4), 416-428.
<https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.06.005>.

Wang, K., Zhuang, T., Su, Z., Chi, M., & Wang, H. Antibiotic residues in wastewaters from sewage treatment plants and pharmaceutical industries: Occurrence, removal and environmental impacts. *Science of the Total Environment*, 2021, 788, 147811.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147811>.

- Wennmalm, A., & Gunnarsson, B. Public Health Care Management of Water Pollution with Pharmaceuticals: Environmental Classification and Analysis of Pharmaceutical Residues in Sewage Water. 2005, 291-297.
- Winefordner, J. D. Liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. 2009.
- Yan, H., Wang, H., Qiao, J., & Yang, G. Molecularly imprinted matrix solid-phase dispersion combined with dispersive liquid - liquid microextraction for the determination of four Sudan dyes in egg yolk. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(16), 2182-2188. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.042>.
- Yuan, Q. Bin, Guo, M. T., & Yang, J. Fate of antibiotic resistant bacteria and genes during wastewater chlorination: Implication for antibiotic resistance control. *PLOS ONE*, 2015, 10(3), 1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119403>.
- Zavala, M. Á. L., & Reynoso-Cuevas, L. Simultaneous extraction and determination of four different groups of pharmaceuticals in compost using optimized ultrasonic extraction and ultrahigh pressure liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1423, 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.10.051>.
- Ziylan, A., & Ince, N. H. The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: Treatability by conventional and non-conventional processes. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 187(1-3), 24-36. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.01.057>.
- Ziylan-Yavas, A., Santos, D., Flores, E. M. M., & Ince, N. H. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs): Environmental and public health risks. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 2022, 1-26, e13821. <https://doi.org/10.1002/ep.13821>.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Resultados da análise de triagem para as diferentes técnicas de preparação das amostras testadas (Parte 1). Onde: “c” = confirmado; “s” = suspeito; “-” = não identificado.

Composto	Preparo de Amostra									
	1 (replica 1) modo positivo	1 (replica 1) modo negativo	1 (replica 2) modo positivo	1 (replica 2) modo negativo	2 (replica 1) modo positivo	2 (replica 1) modo negativo	2 (replica 2) modo positivo	2 (replica 2) modo negativo	3A (replica 1) modo positivo	3A (replica 1) modo negativo
1-Metilxantina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
1,3,7- Ácido trimetilúrico	-	s	-	s	-	-	-	-	-	s
17- Alfa-estradiol	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
17- Alfa- hidroxiprogesterona	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
19- Nortestosterona	-	-	s	-	-	-	s	-	-	-
2,5-Dimetoxianfetamina	-	-	-	-	-	-	s	-	-	-
2-Hidroxicarbamazepina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
4-Acetamidoantipirina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
4-Aminoantipirina	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
4-Formilaminoantipirina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
4-Metilaminoantipirina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
5-Ácido aminossalicílico	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
7- Hidroxiquetiapina	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Aceclidina	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Acetaminofeno	c	-	c	c	c	-	c	-	c	-
Acetanilida	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Aciclovir	s	s	s	s	s	-	s	-	s	-
Ácido Carboxílico Losartana	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Ácido de nicotina	s	-	s	-	s	-	-	-	s	-
Ácido meclofenâmico	-	-	s	-	-	-	s	-	-	-

Composto	Preparo de Amostra									
	1 (replica 1) modo positivo	1 (replica 1) modo negativo	1 (replica 2) modo positivo	1 (replica 2) modo negativo	2 (replica 1) modo positivo	2 (replica 1) modo negativo	2 (replica 2) modo positivo	2 (replica 2) modo negativo	3A (replica 1) modo positivo	3A (replica 1) modo negativo
Ácido micofenólico	-	-	-	s	-	s	-	s	-	s
Ácido tranexâmico	s	-	s	-	-	-	-	-	s	-
Ácido valproato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adrenalona	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Androstenediona	-	-	-	-	s	-	-	-	-	-
Apronalide	-	-	-	-	s	-	-	-	-	-
Atenolol	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Bezafibrato	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Bufexamaco	-	-	-	-	s	-	-	-	-	-
Butilescopolamina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Cafeína	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Carbamazepina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Carboxibuprofeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cetamina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Cetobemidona	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Ciclofosfamida	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Ciprofloxacina	c	-	c	-	c	-	c	-	-	-
Codeína	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Cotina	-	-	-	-	s	-	-	-	s	-
Desvenlafaxina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Diazepam	c	-	c	-	-	-	c	-	c	-
Diclofenaco	-	-	c	-	-	-	c	-	c	-
Difenidramina	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Efedrina	-	-	-	-	-	-	-	s	-	-
Enalapril	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Etambutol	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Composto	Preparo de Amostra									
	1 (replica 1) modo positivo	1 (replica 1) modo negativo	1 (replica 2) modo positivo	1 (replica 2) modo negativo	2 (replica 1) modo positivo	2 (replica 1) modo negativo	2 (replica 2) modo positivo	2 (replica 2) modo negativo	3A (replica 1) modo positivo	3A (replica 1) modo negativo
Etenzamida	s	s	-	-	-	-	-	-	-	-
Femprocumona	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenacetina	s	-	s	-	s	-	-	-	s	-
Fenilefrina	-	-	-	-	-	-	-	-	s	-
Fenilpiracetama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluconazol	c	-	c	-	c	c	c	c	c	-
Flutamida	-	c	-	c	-	c	-	c	-	-
Furosemida	-	c	-	c	-	c	-	c	-	c
Gabapentina	s	-	s	-	s	-	-	-	s	-
Guaifenesina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Hidroclorotiazida	-	c	-	c	-	c	-	c	-	c
Hidrocodona	-	-	-	-	-	-	s	-	-	-
Hidromorfona	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hidroxitestosterona	-	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Ibuprofeno	-	c	-	-	-	c	-	-	-	-
Levetiracetam	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Levofloxacino	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Levopropilhexedrina	-	-	-	-	s	-	s	-	s	-
Lidocaína	c	-	-	-	c	-	c	-	c	-
L-Lisina	s	-	-	-	s	-	s	-	s	-
Losartana	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
Metformina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Metilprednisolona	-	-	-	-	-	-	s	-	-	-
Metoclopramida	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Metoprolol	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Metotrexato	c	c	c	c	c	-	c	-	-	c

Preparo de Amostra										
Composto	1 (replica 1) modo positivo	1 (replica 1) modo negativo	1 (replica 2) modo positivo	1 (replica 2) modo negativo	2 (replica 1) modo positivo	2 (replica 1) modo negativo	2 (replica 2) modo positivo	2 (replica 2) modo negativo	3A (replica 1) modo positivo	3A (replica 1) modo negativo
Metoxetamina	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Metoxifenamina	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Metronidazol	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Naproxeno	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Nimesulida	-	-	-	c	-	-	-	c	-	c
N-Methyl-2,3-dihydro-1H-inden-2-amine	-	-	-	-	s	-	s	-	-	-
Norfenilefrina	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Ofloxacino	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Ondansetrom	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Orfenadrina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxcarbazepina	s	-	s	-	s	-	-	-	s	-
Petidina	s	-	s	-	s	-	-	-	-	-
Piracetam	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Piridoxina	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Practolol	s	-	s	-	-	-	-	-	s	-
Pregabalina	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Primidona	-	-	-	-	s	-	-	-	s	-
Progesterona	-	-	c	-	-	-	-	-	-	-
Propranolol	c	-	c	-	-	-	-	-	-	-
Pseudoefedrina	-	-	-	-	s	-	s	-	s	-
Remifentanil	-	-	-	-	-	-	-	-	s	-
Ritonavir	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rosuvastatina	-	s	s	s	s	s	-	s	s	s
Salicilamida	s	-	s	-	s	-	-	-	s	-
Sulfametoxazol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Composto	Preparo de Amostra									
	1 (replica 1) modo positivo	1 (replica 1) modo negativo	1 (replica 2) modo positivo	1 (replica 2) modo negativo	2 (replica 1) modo positivo	2 (replica 1) modo negativo	2 (replica 2) modo positivo	2 (replica 2) modo negativo	3A (replica 1) modo positivo	3A (replica 1) modo negativo
Sulfóxido de Albendazol	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Temazepam	s	-	-	-	s	-	s	-	-	-
Teobromina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Teofilina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Testosterona	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
THJ-2201	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Topiramato	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Trimetoprim	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-

APÊNDICE B. Resultados da análise de triagem para as diferentes técnicas de preparação das amostras testadas (Parte 2). Onde: “c” = confirmado; “s” = suspeito; “-” = não identificado.

Composto	Preparo de Amostra									
	3A (replica 2) modo positivo	3A (replica 2) modo negativo	3B (replica 1) modo positivo	3B (replica 1) modo negativo	3B (replica 2) modo positivo	3B (replica 2) modo negativo	3C (replica 1) modo positivo	3C (replica 1) modo negativo	3C (replica 2) modo positivo	3C (replica 2) modo negativo
1-Metilxantina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
1,3,7- Ácido trimetilúrico	-	-	-	s	-	s	-	-	-	-
17- Alfa-estradiol	s	-	s	-	s	-	-	-	s	-
17- Alfa-hidroxiprogesterona	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
19- Nortestosterona	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5-Dimetoxianfetamina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Hidroxicarbamazepina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
4-Acetamidoantipirina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
4-Aminoantipirina	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
4-Formilaminoantipirina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
4-Metilaminoantipirina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
5-Ácido aminossalicílico	s	-	-	-	s	-	s	-	-	-
7- Hidroxiquetiapina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aceclidina	-	-	-	-	s	-	-	-	-	-
Acetaminofeno	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Acetanilida	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Aciclovir	s	-	s	-	s	-	s	-	-	-
Ácido Carboxílico Losartana	-	-	s	-	s	-	-	-	-	-
Ácido de nicotina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Ácido meclofenâmico	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-

Composto	Preparo de Amostra									
	3A (replica 2) modo positivo	3A (replica 2) modo negativo	3B (replica 1) modo positivo	3B (replica 1) modo negativo	3B (replica 2) modo positivo	3B (replica 2) modo negativo	3C (replica 1) modo positivo	3C (replica 1) modo negativo	3C (replica 2) modo positivo	3C (replica 2) modo negativo
Ácido micofenólico	-	s	-	s	-	s	-	s	-	s
Ácido tranexâmico	s	-	s	-	s	-	-	-	-	-
Ácido valproato	-	-	-	-	-	-	s	-	-	-
Adrenalona	-	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Androstenediona	-	-	-	-	-	-	-	-	s	-
Apronalide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Atenolol	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Bezafibrato	s	-	s	-	s	-	-	-	-	-
Bufexamaco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Butilescopolamina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Cafeína	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Carbamazepina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Carboxibuprofeno	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Cetamina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Cetobemidona	-	-	s	-	s	-	-	-	-	-
Ciclofosfamida	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Ciprofloxacina	c	-	c	-	-	-	-	-	-	-
Codeína	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Cotina	s	-	-	-	-	-	s	-	-	-
Desvenlafaxina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Diazepam	-	-	c	-	c	-	c	-	-	-
Diclofenaco	c	-	c	c	c	-	c	-	c	-
Difenidramina	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Efedrina	-	-	s	-	s	-	s	-	-	-
Enalapril	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Etambutol	-	-	-	-	s	-	-	-	-	-

Composto	Preparo de Amostra									
	3A (replica 2) modo positivo	3A (replica 2) modo negativo	3B (replica 1) modo positivo	3B (replica 1) modo negativo	3B (replica 2) modo positivo	3B (replica 2) modo negativo	3C (replica 1) modo positivo	3C (replica 1) modo negativo	3C (replica 2) modo positivo	3C (replica 2) modo negativo
Etenzamida	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Femprocumona	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Fenacetina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Fenilefrina	-	-	s	-	s	-	-	-	-	-
Fenilpiracetam	-	-	s	-	s	-	-	-	-	-
Fluconazol	c	c	c	-	c	-	c	-	c	-
Flutamida	-	c	-	c	-	c	-	-	-	-
Furosemida	-	c	-	c	-	c	-	-	-	-
Gabapentina	s	-	s	-	s	-	-	-	s	-
Guaifenesina	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hidroclorotiazida	-	c	-	c	-	c	-	c	-	c
Hidrocodona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hidromorfona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hidroxitesterona	s	-	-	-	s	-	s	-	s	-
Ibuprofeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Levetiracetam	s	-	s	-	s	-	-	-	-	-
Levofloxacino	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Levopropilhexedrina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Lidocaína	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
L-Lisina	s	-	s	-	-	-	s	-	s	-
Losartana	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
Metformina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Metilprednisolona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metoclopramida	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Metoprolol	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Metotrexato	c	c	c	-	c	-	-	-	-	-

Composto	Preparo de Amostra									
	3A (replica 2) modo positivo	3A (replica 2) modo negativo	3B (replica 1) modo positivo	3B (replica 1) modo negativo	3B (replica 2) modo positivo	3B (replica 2) modo negativo	3C (replica 1) modo positivo	3C (replica 1) modo negativo	3C (replica 2) modo positivo	3C (replica 2) modo negativo
Metoxetamina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metoxifenamina	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Metronidazol	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Naproxeno	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Nimesulida	-	-	-	c	-	c	-	-	-	c
N-Methyl-2,3-dihydro-1H-inden-2-amine	-	-	-	-	s	-	s	-	s	-
Norfenilefrina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ofloxacino	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Ondansetrom	-	-	-	-	s	-	s	-	s	-
Orfenadrina	s	-	s	-	s	-	-	-	s	-
Oxcarbazepina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Petidina	-	-	s	-	-	-	-	-	s	-
Piracetam	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Piridoxina	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
Practolol	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Pregabalina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Primidona	s	-	-	-	s	-	s	-	s	-
Progesterona	c	-	-	-	c	-	-	-	c	-
Propranolol	c	-	c	-	c	-	c	-	-	-
Pseudoefedrina	-	-	c	-	c	-	c	-	c	-
Remifentanil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ritonavir	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Rosuvastatina	-	s	s	s	s	s	s	s	s	s
Salicilamida	s	-	s	-	s	-	s	-	-	-
Sulfametoxazol	-	c	-	-	-	-	-	-	-	-

Composto	Preparo de Amostra									
	3A (replica 2) modo positivo	3A (replica 2) modo negativo	3B (replica 1) modo positivo	3B (replica 1) modo negativo	3B (replica 2) modo positivo	3B (replica 2) modo negativo	3C (replica 1) modo positivo	3C (replica 1) modo negativo	3C (replica 2) modo positivo	3C (replica 2) modo negativo
Sulfóxido de Albendazol	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Temazepam	s	-	s	-	s	-	-	-	-	-
Teobromina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Teofilina	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Testosterona	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
THJ-2201	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Topiramato	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
Trimetoprim	c	-	c	-	c	-	c	-	c	-

APÊNDICE C. Resultados baseados na (*Q*)SAR para os fármacos e metabólitos identificados na análise de triagem (Parte 1).

Composto	Mobilidade (Log K _{oc})	Decisão	Meia-vida em água (dias)	Decisão	Biodegradabilidade (<i>BioWin 5</i>)	Decisão	Remoção total em ETE (%)	PBT	Decisão
1-Metilxantina	1	Altamente móvel	15	Não persistente	0,333	Não biodegradável	1,85	0,2	Não PBT
1,3,7- Ácido trimetilúrico	1	Altamente móvel	37,5	Persistência moderada	0,343	Não biodegradável	1,85	0,28	Não PBT
17- Alfa-estradiol	4,19	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,212	Não biodegradável	30,5	0,4	Não PBT
17- Alfa-hidroxiprogesterona	2,87	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,0247	Não biodegradável	7,42	0,44	Não PBT
19- Nortestosterona	3,15	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,375	Não biodegradável	3,49	0,4	Não PBT
2,5-Dimetoxianfetamina	2,51	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,475	Não biodegradável	2,06	0,23	Não PBT
2-Hidroxicarbamazepina	3,23	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,186	Não biodegradável	1,95	0,45	Não PBT
4-Acetamidoantipirina	1,82	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,319	Não biodegradável	1,85	0,35	Não PBT
4-Aminoantipirina	2,13	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,299	Não biodegradável	1,85	0,38	Não PBT
4-Formilaminoantipirina	1,06	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,301	Não biodegradável	1,86	0,41	Não PBT
4-Metilaminoantipirina	1,89	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,317	Não biodegradável	1,86	0,41	Não PBT
5-Ácido aminossalicílico	1,02	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,569	Biodegradável	1,88	0,2	Não PBT
7- Hidroxiquetiapina	4,2	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,0782	Não biodegradável	1,96	0,43	Não PBT
Aceclidina	1,66	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,475	Não biodegradável	1,91	0,32	Não PBT

Composto	Mobilidade (Log K _{oc})	Decisão	Meia-vida em água (dias)	Decisão	Biodegradabilidade (Bio Win 5)	Decisão	Remoção total em ETE (%)	PBT	Decisão
Acetaminofeno	1,65	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,426	Não biodegradável	1,86	0,21	Não PBT
Acetanilida	1,55	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,413	Não biodegradável	1,9	0,19	Não PBT
Aciclovir	1	Altamente móvel	15	Não persistente	0,431	Não biodegradável	1,85	0,37	Não PBT
Ácido carboxílico de losartana	5,04	Imóvel	37,5	Persistência moderada	0,318	Não biodegradável	70,8	0,37	Não PBT
Ácido de nicotina	0,91	Altamente móvel	15	Não persistente	0,697	Biodegradável	1,86	0,2	Não PBT
Ácido meclofenâmico	2,62	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,236	Não biodegradável	92,2	0,41	Não PBT
Ácido micofenólico	2,56	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,903	Biodegradável	41	0,31	Não PBT
Ácido tranexâmico	1,49	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,704	Biodegradável	1,85	0,2	Não PBT
Ácido valproato	1,43	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,76	Biodegradável	4,24	0,23	Não PBT
Adrenalona	2,06	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,446	Não biodegradável	1,86	0,21	Não PBT
Androstenediona	3,53	Ligeiramente móvel	60	Persistente	0,174	Não biodegradável	4,05	0,41	Não PBT
Apronalide	1,69	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,222	Não biodegradável	2,03	0,28	Não PBT
Atenolol	1,83	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,394	Não biodegradável	1,85	0,32	Não PBT
Bezafibrato	2,62	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,387	Não biodegradável	42,6	0,4	Não PBT
Bufexamaco	2,94	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,428	Não biodegradável	2,33	0,24	Não PBT

Composto	Mobilidade (Log K _{oc})	Decisão	Meia-vida em água (dias)	Decisão	Biodegradabilidade (Bio Win 5)	Decisão	Remoção total em ETE (%)	PBT	Decisão
Butilescopolamina	2,82	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,409	Não biodegradável	1,88	0,31	Não PBT
Cafeína	1	Altamente móvel	15	Não persistente	0,368	Não biodegradável	1,85	0,31	Não PBT
Carbamazepina	3,12	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,173	Não biodegradável	2,96	0,43	Não PBT
Carboxibuprofeno	3,1	Ligeiramente móvel	8,67	Não persistente	0,728	Biodegradável	2,22	0,29	Não PBT
Cetamina	3,06	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,152	Não biodegradável	2,45	0,33	Não PBT
Cetobemidona	3,21	Ligeiramente móvel	60	Persistente	0,125	Não biodegradável	1,89	0,31	Não PBT
Ciclofosfamida	1,97	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,322	Não biodegradável	1,86	0,31	Não PBT
Ciprofloxacina	1	Altamente móvel	60	Persistente	0,182	Não biodegradável	1,85	0,41	Não PBT
Codeína	2,84	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,244	Não biodegradável	1,91	0,33	Não PBT
Cotina	2,12	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,238	Não biodegradável	1,85	0,25	Não PBT
Desvenlafaxina	3,24	Ligeiramente móvel	60	Persistente	-0,0658	Não biodegradável	3,9	0,44	Não PBT
Diazepam	3,88	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,153	Não biodegradável	4,42	0,48	Incerto
Diclofenaco	2,66	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,227	Não biodegradável	56,6	0,49	Incerto
Difenidramina	3,92	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	-0,0244	Não biodegradável	8,76	0,37	Não PBT
Efedrina	1,86	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,301	Não biodegradável	1,9	0,21	Não PBT

Composto	Mobilidade (Log K _{oc})	Decisão	Meia-vida em água (dias)	Decisão	Biodegradabilidade (Bio Win 5)	Decisão	Remoção total em ETE (%)	PBT	Decisão
Enalapril	2,54	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,602	Biodegradável	1,85	0,31	Não PBT
Etambutol	1	Altamente móvel	15	Não persistente	0,574	Biodegradável	1,85	0,18	Não PBT
Etenzamida	1,32	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,472	Não biodegradável	1,87	0,21	Não PBT
Fenacetina	1,61	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,489	Biodegradável	2	0,27	Não PBT
Fenilefrina	1,75	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,386	Não biodegradável	1,85	0,22	Não PBT
Fenilpiracetama	2,11	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,196	Não biodegradável	1,85	0,26	Não PBT
Femprocumona	3,01	Ligeiramente móvel	15	Não persistente	0,42	Não biodegradável	16,1	0,35	Não PBT
Fluconazol	3,59	Ligeiramente móvel	180	Muito persistente	0,115	Não biodegradável	1,86	0,46	Não PBT
Flutamida	3,06	Ligeiramente móvel	60	Persistente	0,139	Não biodegradável	10	0,44	Não PBT
Furosemida	2,04	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,239	Não biodegradável	2,27	0,32	Não PBT
Gabapentina	1,73	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,585	Biodegradável	1,85	0,2	Não PBT
Guaifenesina	1	Altamente móvel	15	Não persistente	0,703	Biodegradável	1,94	0,2	Não PBT
Hidroclorotiazida	1,08	Mobilidade moderada	60	Persistente	-0,0667	Não biodegradável	1,85	0,42	Não PBT
Hidrocodona	3,03	Ligeiramente móvel	60	Persistente	0,191	Não biodegradável	2,42	0,34	Não PBT
Hidromorfona	3,34	Ligeiramente móvel	60	Persistente	0,131	Não biodegradável	2,01	0,33	Não PBT

Composto	Mobilidade (Log K _{oc})	Decisão	Meia-vida em água (dias)	Decisão	Biodegradabilidade (Bio Win 5)	Decisão	Remoção total em ETE (%)	PBT	Decisão
Hidroxitestosterona	2,24	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,369	Não biodegradável	2,4	0,36	Não PBT
Ibuprofeno	2,63	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,499	Biodegradável	28,7	0,22	Não PBT
Levetiracetam	1,07	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,388	Não biodegradável	1,85	0,19	Não PBT
Levofloxacino	1,09	Mobilidade moderada	180	Muito persistente	0,126	Não biodegradável	1,85	0,31	Não PBT
Levopropilhexedrina	2,95	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,412	Não biodegradável	16	0,26	Não PBT
Lidocaína	2,62	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,217	Não biodegradável	2,94	0,34	Não PBT
L-Lisina	1	Altamente móvel	8,67	Não persistente	0,644	Biodegradável	1,85	0,19	Não PBT
Losartana	5,15	Imóvel	37,5	Persistência moderada	0,159	Não biodegradável	30,5	0,39	Não PBT
Metformina	1,64	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,431	Não biodegradável	1,85	0,22	Não PBT
Metilprednisolona	2,26	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,2	Não biodegradável	2,11	0,28	Não PBT
Metoclopramida	1,91	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,0774	Não biodegradável	3,49	0,41	Não PBT
Metoprolol	2,06	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,417	Não biodegradável	2,15	0,23	Não PBT
Metotrexato	3,17	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,129	Não biodegradável	1,85	0,38	Não PBT
Metoxetamina	2,91	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,323	Não biodegradável	6,14	0,31	Não PBT

Composto	Mobilidade (Log K _{oc})	Decisão	Meia-vida em água (dias)	Decisão	Biodegradabilidade (Bio Win 5)	Decisão	Remoção total em ETE (%)	PBT	Decisão
Metoxifenamina	2,77	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,419	Não biodegradável	2,65	0,25	Não PBT
Metronidazol	1,15	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,29	Não biodegradável	1,85	0,2	Não PBT
Naproxeno	2,53	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,541	Biodegradável	7,55	0,22	Não PBT
Nimesulida	2,75	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,0021	Não biodegradável	3,41	0,49	Incerto
N-Methyl-2,3-dihydro-1H-inden-2-amine	2,99	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,409	Não biodegradável	2,24	0,29	Não PBT
Norfenilefrina	1,7	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,368	Não biodegradável	1,85	0,22	Não PBT
Ofloxacino	1,09	Mobilidade moderada	180	Muito persistente	0,126	Não biodegradável	1,85	0,31	Não PBT
Ondansetrom	4,43	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,267	Não biodegradável	27,8	0,47	Não PBT
Orfenadrina	4,14	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	-0,0391	Não biodegradável	20,8	0,46	Não PBT
Oxcarbazepina	2,21	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,237	Não biodegradável	1,9	0,43	Não PBT
Petidina	3,19	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,269	Não biodegradável	3,9	0,34	Não PBT
Piracetam	1	Altamente móvel	15	Não persistente	0,458	Não biodegradável	1,85	0,19	Não PBT
Piridoxina	1	Altamente móvel	15	Não persistente	0,651	Biodegradável	1,85	0,22	Não PBT
Practolol	1,3	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,407	Não biodegradável	1,87	0,31	Não PBT
Pregabalina	1,4	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,629	Biodegradável	1,85	0,2	Não PBT

Composto	Mobilidade (Log K _{oc})	Decisão	Meia-vida em água (dias)	Decisão	Biodegradabilidade (Bio Win 5)	Decisão	Remoção total em ETE (%)	PBT	Decisão
Primidona	2,14	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,231	Não biodegradável	1,88	0,28	Não PBT
Progesterona	4	Ligeiramente móvel	60	Persistente	0,178	Não biodegradável	24,5	0,5	Incerto
Propranolol	2,95	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,35	Não biodegradável	12,6	0,31	Não PBT
Pseudoefedrina	1,86	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,301	Não biodegradável	1,9	0,21	Não PBT
Remifentanil	2,37	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,418	Não biodegradável	1,96	0,45	Incerto
Ritonavir	7,73	Imóvel	180	Muito persistente	-0,73	Não biodegradável	93	0,35	Não PBT
Rosuvastatina	1,68	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,379	Não biodegradável	3,04	0,46	Não PBT
Salicilamida	1,36	Mobilidade moderada	15	Não persistente	0,408	Não biodegradável	1,92	0,18	Não PBT
Sulfametoxazol	2,41	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,0375	Não biodegradável	1,88	0,38	Não PBT
Sulfóxido de Albendazol	2,62	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,0461	Não biodegradável	1,92	0,43	Não PBT
Temazepam	2,77	Mobilidade moderada	37,5	Persistência moderada	0,258	Não biodegradável	2,46	0,47	Não PBT
Teobromina	1	Altamente móvel	15	Não persistente	0,351	Não biodegradável	1,85	0,3	Não PBT
Teofilina	1	Altamente móvel	15	Não persistente	0,351	Não biodegradável	1,85	0,32	Não PBT
Testosterona	3,34	Ligeiramente móvel	37,5	Persistência moderada	0,264	Não biodegradável	9,54	0,45	Não PBT
THJ-2201	5,8	Imóvel	37,5	Persistência moderada	0,223	Não biodegradável	92,2	0,51	Incerto

Composto	Mobilidade (Log K_{oc})	Decisão	Meia-vida em água (dias)	Decisão	Biodegradabilidade (<i>Bio Win 5</i>)	Decisão	Remoção total em ETE (%)	PBT	Decisão
Topiramato	1	Altamente móvel	60	Persistente	-0,171	Não biodegradável	1,85	0,35	Não PBT
Trimetoprim	2,86	Mobilidade moderada	60	Persistente	0,232	Não biodegradável	1,88	0,34	Não PBT

APÊNDICE D. Resultados baseados na (Q)SAR para os fármacos e metabólitos identificados na análise de triagem (Parte 2).

Composto	Ligação ao receptor de estrogênio	Decisão	Score de Mutagenicidade	Score de Não Mutagenicidade	Decisão	Carcinogenicidade	Decisão
1-Metilxantina	0	Não ligante	0,1	0,375	Não mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade
1,3,7- Ácido trimetilúrico	0	Não ligante	0,2	0,3	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
17- Alfa-estradiol	20	Ligante muito forte	0	1	Não mutagênico	1	Carcinogênico com valor experimental
17- Alfa-hidroxiprogesterona	0	Não ligante	0,05	0,6	Não mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
19- Nortestosterona	15	Ligante forte	0,05	0,675	Não mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
2,5-Dimetoxianfetamina	0	Não ligante	0,05	0,6	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
2-Hidroxicarbamazepina	15	Ligante forte	0,375	0,1	Mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
4-Acetamidoantipirina	0	Não ligante	0,35	0,15	Mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
4-Aminoantipirina	0	Não ligante	0,1	0,3	Não mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
4-Formilaminoantipirina	0	Não ligante	0,35	0,15	Mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
4-Metilaminoantipirina	0	Não ligante	0,1	0,3	Não mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
5-Ácido aminossalicílico	5	Ligante fraco	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
7- Hidroxiquetiapina	15	Ligante forte	0	0,4	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Aceclidina	0	Não ligante	0,2	0,2	Mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade

Composto	Ligação ao receptor de estrogênio	Decisão	Score de Mutagenicidade	Score de Não Mutagenicidade	Decisão	Carcinogenicidade	Decisão
Acetaminofeno	5	Ligante fraco	0	1	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Acetanilida	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Aciclovir	0	Não ligante	0,15	0,05	Mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Ácido carboxílico de losartana	0	Não ligante	0	0,4	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Ácido de nicotina	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Ácido meclofenâmico	0	Não ligante	0,15	0,6	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Ácido micofenólico	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Ácido tranexâmico	5	Não ligante	0	0,575	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Ácido valproato	7	Não ligante	0	0,9	Não mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
Adrenalona	10	Ligante moderado	0	0,675	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Androstenediona	0	Não ligante	0,05	0,675	Não mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
Apronalide	0	Não ligante	0,05	0,45	Não mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade
Atenolol	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Bezafibrato	0	Não ligante	0	0,6	Não mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
Bufexamaco	0	Não ligante	0,1	0,3	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade

Composto	Ligação ao receptor de estrogênio	Decisão	Score de Mutagenicidade	Score de Não Mutagenicidade	Decisão	Carcinogenicidade	Decisão
Butilescopolamina	0	Não ligante	0,15	0,225	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Cafeína	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0	Não carcinogênico com valor experimental
Carbamazepina	0	Não ligante	0,15	0,35	Não mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Carboxibuprofeno	0	Não ligante	0	0,65	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Cetamina	0	Não ligante	0	0,5	Não mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Cetobemidona	15	Ligante forte	0	0,825	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Ciclofosfamida	0	Não ligante	1	0	Mutagênico	1	Carcinogênico com valor experimental
Ciprofloxacina	0	Não ligante	1	0	Mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Codeína	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0	Não Carcinogênico com valor experimental
Cotinina	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Desvenlafaxina	15	Ligante forte	0	0,75	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Diazepam	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0	Não carcinogênico com valor experimental
Diclofenaco	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Difenidramina	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade
Efedrina	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade

Composto	Ligação ao receptor de estrogênio	Decisão	Score de Mutagenicidade	Score de Não Mutagenicidade	Decisão	Carcinogenicidade	Decisão
Enalapril	0	Não ligante	0	0,75	Não mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade
Etambutol	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Etenzamida	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Femprocumona	0	Não ligante	0,05	0,6	Não mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Fenacetina	0	Não ligante	1	0	Mutagênico	1	Carcinogênico com valor experimental
Fenilefrina	5	Ligante fraco	0	1	Não mutagênico	0,2	Não carcinogênico com moderada confiabilidade
Fenilpiracetama	0	Não ligante	0,15	0,15	Mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Fluconazol	0	Não ligante	0,15	0,35	Não mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
Flutamida	0	Não ligante	0,25	0,15	Mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Furosemida	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Gabapentina	0	Não ligante	0	0,825	Não mutagênico	1	Carcinogênico com valor experimental
Guaifenesina	0	Não ligante	0	0,4	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Hidroclorotiazida	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,2	Não carcinogênico com moderada confiabilidade
Hidrocodona	0	Não ligante	0	0,825	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Hidromorfona	15	Ligante forte	0	0,9	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade

Composto	Ligação ao receptor de estrogênio	Decisão	Score de Mutagenicidade	Score de Não Mutagenicidade	Decisão	Carcinogenicidade	Decisão
Hidroxitestosterona	0	Não ligante	0,05	0,6	Não mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
Ibuprofeno	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,2	Não carcinogênico com moderada confiabilidade
Levetiracetam	0	Não ligante	0,15	0,525	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Levofloxacino	0	Não ligante	0,725	0	Mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Levopropilhexedrina	0	Não ligante	0	0,825	Não mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade
Lidocaína	0	Não ligante	0	0,5	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
L-Lisina	0	Não ligante	1	0	Mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade
Losartana	0	Não ligante	0,15	0,35	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Metformina	0	Não ligante	0,05	0,35	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Metilprednisolona	15	Ligante forte	0,05	0,6	Não mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Metoclopramida	15	Ligante forte	0,35	0,15	Mutagênico	0,9	Carcinogênico com alta confiabilidade
Metoprolol	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,3	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Metotrexato	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,2	Não carcinogênico com moderada confiabilidade
Metoxetamina	0	Não ligante	0	0,5	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Metoxifenamina	0	Não ligante	0	0,75	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade

Composto	Ligação ao receptor de estrogênio	Decisão	Score de Mutagenicidade	Score de Não Mutagenicidade	Decisão	Carcinogenicidade	Decisão
Metronidazol	0	Não ligante	1	0	Mutagênico	1	Carcinogênico com valor experimental
Naproxeno	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Nimesulida	0	Não ligante	0,5	0	Mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
N-Methyl-2,3-dihydro-1H-inden-2-amine	0	Não ligante	0,15	0,35	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Norfenilefrina	5	Ligante fraco	0,15	0,525	Não mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade
Ofloxacino	0	Não ligante	0,725	0	Mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Ondansetrom	0	Não ligante	0,3	0,1	Mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Orfenadrina	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Oxcarbazepina	0	Não ligante	0	0,65	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Petidina	0	Não ligante	0	0,75	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Piracetam	0	Não ligante	0	0,675	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Piridoxina	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Practolol	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Pregabalina	0	Não ligante	0	0,825	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Primidona	0	Não ligante	1	0	Mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade

Composto	Ligação ao receptor de estrogênio	Decisão	Score de Mutagenicidade	Score de Não Mutagenicidade	Decisão	Carcinogenicidade	Decisão
Progesterona	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
Propranolol	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Pseudoefedrina	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade
Remifentanil	0	Não ligante	0	0,725	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Ritonavir	0	Não ligante	0,15	0,15	Mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Rosuvastatina	0	Não ligante	0	0,3	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Salicilamida	5	Ligante fraco	0	1	Não mutagênico	0,5	Possivelmente não carcinogênico com moderada confiabilidade
Sulfametoxazol	15	Ligante forte	0	1	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Sulfóxido de Albendazol	0	Não ligante	0,1	0,2	Não mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade
Temazepam	0	Não ligante	0,1	0,375	Não mutagênico	0,3	Não carcinogênico com baixa confiabilidade
Teobromina	0	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0,4	Possivelmente não carcinogênico com alta confiabilidade
Teofilina	1	Não ligante	0	1	Não mutagênico	0	Não carcinogênico com valor experimental
Testosterona	15	Ligante forte	0,05	0,675	Não mutagênico	0,8	Carcinogênico com moderada confiabilidade
THJ-2201	2	Não ligante	0,2	0,1	Mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade
Topiramato	3	Não ligante	0,05	0,15	Não mutagênico	0,6	Possivelmente não carcinogênico com baixa confiabilidade

Composto	Ligação ao receptor de estrogênio	Decisão	<i>Score</i> de Mutagenicidade	<i>Score</i> de Não Mutagenicidade	Decisão	Carcinogenicidade	Decisão
Trimetoprim	6	Não ligante	0,425	0,05	Mutagênico	0,7	Carcinogênico com baixa confiabilidade

APÊNDICE E. Agrupamento *ELECTRE* para teste de sensibilidade.

Composto	Grupos		
	Peso original	Peso -0,5	Peso +1
Fenacetina	0	0	0
Ciclofosfamida	0	0	0
Metoclopramida	0	0	0
2-Hidroxicarbamazepina	0	0	0
17- Alfa-estradiol	0	0	0
Metronidazol	1	1	1
Desvenlafaxina	1	1	1
Primidona	2	2	2
Testosterona	2	2	2
Trimetoprim	2	2	2
19- Nortestosterona	3	3	3
Ciprofloxacina	3	3	3
4-Formilaminoantipirina	3	3	4
L-Lisina	4	4	4
Metilprednisolona	4	4	4
4-Acetamidoantipirina	4	4	4
Flutamida	4	5	5
Fluconazol	4	6	4
THJ-2201	4	5	4
Ondansetrom	4	5	5
Levofloxacino	5	4	5
Ofloxacino	5	4	5
Ritonavir	5	6	3
Bezafibrato	5	7	5
Ácido valproato	5	5	7
7- Hidroxiquetiapina	5	5	4
Androstenediona	5	7	6
Sulfametoxazol	6	6	5
Hidromorfona	6	6	5
Progesterona	6	7	6
Carbamazepina	6	7	8
Topiramato	6	6	8
Ácido meclofenâmico	6	8	6
Aceclidina	6	8	8
Cetobemidona	7	7	6
Hidroxitestosterona	7	7	9
Nimesulida	7	8	7
4-Aminoantipirina	7	8	9
Orfenadrina	7	7	6
Butilescopolamina	7	8	9
Femprocumona	8	8	8
Adrenalona	8	7	7
Gabapentina	8	7	8

Composto	Grupos		
	Peso original	Peso -0,5	Peso +1
5-Ácido aminossalicílico	8	7	8
Sulfóxido de Albendazol	8	9	10
Difenidramina	8	8	7
1,3,7- Ácido trimetilúrico	8	7	11
Norfenilefrina	9	8	9
Ácido tranexâmico	9	7	8
Acetaminofeno	9	6	6
4-Metilaminoantipirina	9	9	9
Losartana	9	9	7
Bufexamaco	9	9	10
Salicilamida	10	9	9
N-Methyl-2,3-dihydro-1H-inden-2-amine	10	9	10
Ácido micofenólico	10	10	9
Cetamina	10	10	10
Ácido Carboxílico Losartana	10	12	8
17- Alfa-hidroxiprogesterona	11	11	9
Diclofenaco	11	10	8
Rosuvastatina	11	10	11
Fenilpiracetama	11	10	11
Etenzamida	11	9	11
Fenilefrina	11	10	10
Propranolol	12	13	9
Aciclovir	12	11	12
Levetiracetam	12	11	12
Piridoxina	12	11	15
Temazepam	12	11	12
Metoxetamina	12	13	11
Acetanilida	12	11	12
Lidocaína	12	14	12
Oxcarbapentina	13	11	13
Atenolol	13	12	12
2,5-Dimetoxianfetamina	13	12	13
Ácido de nicotina	13	12	16
Petidina	13	14	12
Naproxeno	13	14	12
Cotinina	14	13	14
Furosemida	14	14	13
Metoxifenamina	14	15	13
1-Metilxantina	14	13	17
Levopropilhexedrina	14	16	13
Pregabalina	15	14	15
Carboxibuprofeno	15	15	14
Hidrocodona	15	15	14
Remifentanil	15	15	13
Metformina	15	13	15
Ibuprofeno	15	17	14

Composto	Grupos		
	Peso original	Peso -0,5	Peso +1
Practolol	15	16	15
Apronalide	16	15	15
Metoprolol	16	17	15
Piracetam	16	17	17
Hidroclorotiazida	16	17	16
Enalapril	17	18	16
Guaifenesina	17	17	16
Metotrexato	17	19	16
Etambutol	18	18	18
Teobromina	18	18	17
Efedrina	19	19	18
Pseudoefedrina	19	19	18
Diazepam	19	20	16
Codeína	19	20	17
Teofilina	19	20	19
Cafeína	19	20	19

APÊNDICE F. Resultados do teste de *Friedman* para o teste de sensibilidade.

Informação		Valor
Qui-quadrado de <i>Friedman</i> (nível de significância de 0,01)		5,774
Graus de liberdade		2
p-valor		0,0557
Diferença crítica		42,535
Comparação de agrupamento	Diferença observada	Diferença significativa?
Original - Peso -0,5	0,5	Não
Original - Peso +1	25	Não
Peso -0,5 - Peso +1	24,5	Não