




AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E FARMACOCINÉTICA IN SILICO DO CEFTIOFUR NA SAÚDE HUMANA E AMBIENTAL

 <https://doi.org/10.56238/levv15n43-074>

Data de submissão: 20/11/2024

Data de publicação: 20/12/2024

Gabriel Veloso Correa

Graduando em Engenharia Química
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais - IFNMG
Montes Claros- Minas Gerais - Brasil
Grupo de Química Medicinal e Tecnologias Computacionais Avançadas
E-mail: gvc@aluno.ifnmg.edu.br

José Felipe Leite Ferreira Rosa

Graduando em Engenharia Química
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais - IFNMG
Montes Claros- Minas Gerais - Brasil
Grupo de Química Medicinal e Tecnologias Computacionais Avançadas
E-mail: jflfr@aluno.ifnmg.edu.br

Stephanie Priscila de Sousa Cezário

Graduando em Engenharia Química
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais - IFNMG
Montes Claros- Minas Gerais - Brasil
Grupo de Química Medicinal e Tecnologias Computacionais Avançadas
E-mail: spdsc@aluno.ifnmg.edu.br

Laura Faria Araujo

Graduando em Engenharia Química
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais - IFNMG
Montes Claros- Minas Gerais - Brasil
Grupo de Química Medicinal e Tecnologias Computacionais Avançadas
E-mail: lfa4@aluno.ifnmg.edu.br

Ludmilla Louise Cerqueira Maia Prates

Doutor em Ciências de Saúde pela Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes
Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes
Montes Claros- Minas Gerais - Brasil
Grupo de Química Medicinal e Tecnologias Computacionais Avançadas.
E-mail: lud.c.m.prates@gmail.com

Sérgio Avelino Mota Nobre

Doutor em Fitopatologia (Epidemiologia e Controle Biológico de Microrganismos) pela
Universidade Federal de Viçosa.



Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes
Campus Universitário Prof. Darcy Ribeiro, Av. Prof. Rui Braga, s/n - Vila Mauriceia, Montes Claros
- MG, 39401-089
E-mail: sergio.nobre@unimontes.br

Luiz Frederico Motta

Doutor em Química Medicinal pela Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP - São Paulo - SP.

Instituto Federal do Norte de Minas Gerais - IFNMG
Montes Claros- Minas Gerais - Brasil

Líder do Grupo de Química Medicinal e Tecnologias Computacionais Avançadas.
E-mail: luiz.motta@ifnmg.edu.br

RESUMO

O Ceftiofur é uma cefalosporina de amplo espectro, com efetivo contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos. Esse antibiótico atua inibindo a síntese da parede celular bacteriana. Os antibióticos, utilizados tanto na medicina humana quanto na veterinária, são fármacos que preocupam quando encontrados no meio ambiente. Isso se deve ao fato de que, mesmo em baixas concentrações, a exposição prolongada desses resíduos pode levar ao surgimento de bactérias resistentes, comprometendo a saúde humana e o equilíbrio ambiental. O contato direto ou indireto, seja através da cadeia alimentar, dos recursos hídricos ou das excretas dos animais, representam as principais vias de contaminação. No presente estudo, foram empregadas metodologias in silico para prever as propriedades moleculares do antibiótico Ceftiofur. O estudo toxicológico in silico ambiental revelou que o Ceftiofur não é tóxico para abelhas, mas apresenta toxicidade para peixes e crustáceos, e a sua estrutura química não se degrada no ambiente. A análise ADME in silico indicou que o antibiótico não apresenta uma previsão favorável para biodisponibilidade oral, devido às violações dos critérios de Lipinski e possui uma taxa de absorção intestinal moderada e ausência de permeabilidade através da barreira hematoencefálica. Adicionalmente, o estudo farmacocinético in silico revelou que o Ceftiofur não possui capacidade inibitória sobre nenhuma das cinco isoenzimas hepáticas do complexo citocromo P450 (CYP450). O estudo toxicológico in silico humano apresentou resultados promissores, demonstrando que o antibiótico não é tóxico (não mutagênico) no teste de AMES, não possui propriedades carcinogênicas e classificado na categoria IV para toxicidade oral aguda, indicando baixa toxicidade.

Palavras-chave: Antibiótico. Ceftiofur. Toxicologia In Silico Ambiental. Toxicologia In Silico Humana e Farmacocinética In Silico Humana.

1 INTRODUÇÃO

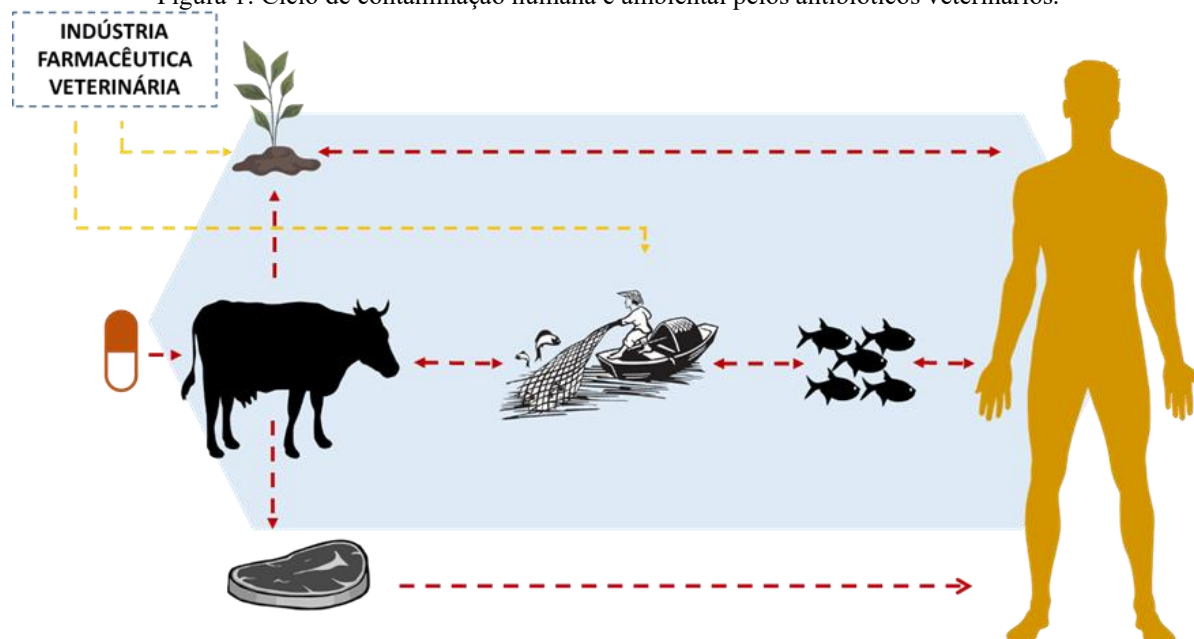
A pecuária bovina desempenha um papel essencial no contexto do agronegócio brasileiro, uma vez que o Brasil detém o segundo maior rebanho comercial do mundo, estimado em cerca de 200 milhões de animais, o que impulsiona significativamente o desenvolvimento da cadeia produtiva. No entanto, desafios sanitários ainda resultam em perdas, e os antibióticos ocupam a terceira posição no ranking de faturamento nacional de produtos veterinários, ficando apenas atrás de antiparasitários e vacinas. A introdução generalizada de antibióticos na agropecuária teve início nos anos 60, sendo reconhecida como uma solução eficaz para aprimorar a produção agropecuária intensiva (OLIVEIRA et al., 2011), (BROWN et al., 2017).

Entretanto, os antibióticos são considerados potencialmente nocivos, uma vez que desencadeiam um processo de resistência metabólica e estão sujeitos a fenômenos de bioacumulação e biomagnificação. Além disso, são amplamente disseminados no ambiente, com resíduos sendo descartados em quantidades significativas sem tratamento prévio (MONTAGENERA et al., 2017), (FENT et al., 2006). A utilização inadequada de antibióticos veterinários pode resultar concentração elevada de resíduos de antibióticos em produtos de origem animal, acarretando diversos impactos diretos e indiretos nos consumidores, como é evidenciado no caso do antibiótico em análise, o ceftiofur (DE SOUZA et al., 2013).

O ceftiofur é uma cefalosporina de amplo espectro, com efetivo contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos. Esse antibiótico atua inibindo a síntese da parede celular bacteriana. É indicado para o tratamento de infecções respiratórias bacterianas associadas à *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* (antes *Pasteurella haemolytica*) e *Haemophilus somnus* (AMARANTE, et al., 2018).

Os antibióticos, utilizados tanto na medicina humana quanto na veterinária, são medicamentos que mais preocupam quando encontrados no ambiente aquático. Isso se deve ao fato de que, mesmo em baixas concentrações, a exposição prolongada desses resíduos pode levar ao surgimento de bactérias resistentes, comprometendo a saúde humana e o equilíbrio ambiental (HERNANDEZ et al., 2007). A contaminação por medicamentos pode ocorrer de diversas formas, afetando tanto os seres humanos quanto o meio ambiente. O contato direto ou indireto, seja através da cadeia alimentar, dos recursos hídricos ou das excretas dos animais, são as principais vias de contaminação, conforme ilustrado na figura 1.

Figura 1: Ciclo de contaminação humana e ambiental pelos antibióticos veterinários.



Fonte: Adaptado de Fonseca, 2023.

A contaminação do ecossistema por fármacos se manifesta devido à incompleta metabolização dos antibióticos administrados nos organismos animais, resultando na excreção destes compostos pela urina e fezes, tanto na forma original quanto parcialmente metabolizada (HALLING-SORENSEN et al., 1998), (SARMAH et al., 2006) e (KEMPER, 2008). Uma vez no meio ambiente, os resíduos de antibióticos podem se acumular no solo, sofrer lixiviação ou ser transportados para corpos d'água por meio do escoamento superficial (DÍAZ-CRUZ et al., 2003). Além disso, alguns desses resíduos no solo podem ser absorvidos pelas plantas e acumular-se nos tecidos, representando risco para a saúde humana durante a colheita e o consumo de alimentos de origem vegetal (MIGLIORE et al., 2003) e (BOXALL et al., 2006). Essa problemática não é destacada nos estudos que abordam os impactos ambientais e da saúde associados à presença de resíduos de antibióticos no solo e na água.

Apesar da crucial relevância da produção animal para o agronegócio brasileiro, é notável a carência de pesquisas abrangentes nessa área. Nesse contexto, a integração das metodologias *in silico* para a predição de descritores assume uma posição estratégica, oferecendo dados valiosos sobre a contaminação humana e ambiental. Diante disso, o presente estudo visa avaliar, por meio da Quimioinformática, com auxílio das metodologias *in silico*, os impactos toxicológicos na saúde ambiental e humana, bem como prever o perfil farmacocinético do antibiótico Ceftiofur na saúde humana.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização desta pesquisa, utilizou-se programas computacionais e bancos de dados online de plataformas internacionais de Quimioinformática para obter as propriedades moleculares (descritores moleculares) da estrutura química do antibiótico Ceftiofur.

2.1 MODELAGEM MOLECULAR

Inicialmente, a estrutura química do antibiótico foi desenhada bidimensionalmente (2D) e visualizada tridimensionalmente (3D) com auxílio do programa ACD/ChemSketch® Freeware versão 2021 (*Advanced Chemistry Development, Inc., 2021*), em seguida tabelou-se a energia estérica da estrutura química do ceftiofur. Posteriormente a energia estérica da estrutura química tridimensional do antibiótico foi tabelada, obteve-se o código SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry Specification*) e exportou-se para as plataformas internacionais de bancos de dados. Finalmente, a estrutura química da molécula do antibiótico foi salva em arquivo do tipo MDL molfiles (.mol) para realização de estudos posteriores.

2.2 ESTUDO TOXICOLÓGICO *IN SILICO* AMBIENTAL

Por intermédio do programa computacional ACD/ChemSketch® Freeware versão 2021 (*Advanced Chemistry Development, Inc., 2021*) e utilização do código fonte do arquivo (.mol) obteve-se o código SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry Specification*). Posteriormente, exportou-se o código SMILES para a plataforma de banco de dados on-line. O estudo Toxicológico *in silico* ambiental da Cefquinoma foi realizado para prever a biodegradação ambiental, a toxicidade em peixes, em abelhas e crustáceos. Esta predição foi realizada com auxílio da plataforma internacional chinesa admetSAR® versão 2.0 (<http://lmmmd.ecust.edu.cn/admetSar2/>) coordenada pelo Professor Doutor Yun Tang, Líder do Laboratório de Modelagem e Design Molecular (LMMD), da Escola de Farmácia da Universidade de Ciência e Tecnologia da China Oriental (YANG, et al., 2018).

2.3 ESTUDO FARMACOCINÉTICO *IN SILICO* PARA BIODISPONIBILIDADE ORAL

Após realizar a Modelagem Molecular, obteve-se o código SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry Specification*) e exportou-se para a plataforma internacional de bancos de dados. O estudo Farmacocinético *in silico* humano para avaliar o perfil de biodisponibilidade oral do antibiótico em estudo, foi realizado através do banco de dados da Molinspiration Cheminformatics® (<https://www.molinspiration.com>) (GROB, 1986). Este banco de dados prediz propriedades moleculares com objetivo de avaliar a biodisponibilidade oral com base na Regra-dos-Cinco (*Rule of Five*) por intermédio de cálculos interativos de propriedades moleculares, bem como a obtenção de tabelas de dados que podem ser utilizadas em estudos QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship).

2.4 ESTUDO FARMACOCINÉTICO *IN SILICO* HUMANO (ADME *IN SILICO*)

O estudo ADME *in silico* (ADME, na sigla em inglês: refere-se à *absorção, distribuição, metabolismo e excreção*) do antibiótico ceftiofur foi realizado com o objetivo de prever os descritores

moleculares: Absorção Intestinal Humana (HIA, na sigla em inglês: *human intestinal absorption*), Permeabilidade pela Barreira Hematoencefálica (BBB, na sigla em inglês: *blood-brain barrier*), Inibição da glicoproteína-P e Distribuição do antibiótico no organismo humano. Posteriormente executou-se o estudo ADME *in silico* com intuito de prever a inibição e a interação com as isoenzimas hepáticas do complexo citocromo P450 (CYP450) do antibiótico. O estudo ADME *in silico* foi realizado com auxílio da plataforma chinesa admetSAR® (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar2/>) (YANG, *et al.*, 2018).

2.5 ESTUDO TOXICOLÓGICO *IN SILICO* HUMANO

Por intermédio do programa computacional ACD/ChemSketch® Freeware versão 2021 (Advanced Chemistry Development, Inc., 2021) e utilização do código fonte do arquivo (.mol) obteve-se o código SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry Specification*). Posteriormente, exportou-se o código SMILES para a plataforma de bancos de dados on-line.

Realizou-se o estudo Toxicológico *in silico* humano para o antibiótico com intuito de prever a toxicidade pelo teste de AMES (T: tóxico; NT: não tóxico), carcinogenicidade (C: carcinogênico; NC: não carcinogênico) e a Toxicidade Oral Aguda subdividida em categorias utilizando também a plataforma admetSAR® (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar2/>) (YANG, *et al.*, 2018).

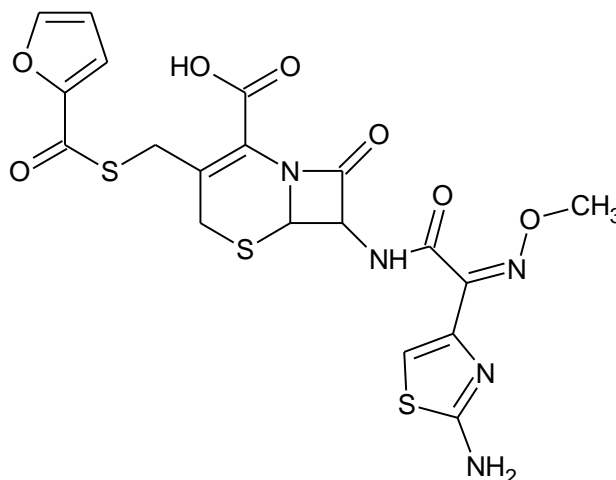
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MODELAGEM MOLECULAR

A atividade biológica do ligante (antibiótico) está correlacionada com as interações intermoleculares entre o ligante (molécula do antibiótico) e a biomacromolécula (receptor biológico = alvo biológico). Este estudo é conhecido como SBDD (*Structure Based Drug Design*), no qual determina-se por intermédio de parâmetros físico-químicos a energia livre das interações intermoleculares ligante-receptor na fenda ativa (sulco ativo de ligação) do receptor biológico (MORRIS e LIM-WILBY, 2008). A minimização energética da estrutura química consiste no processo no qual ocorrerá alteração das coordenadas atômicas da molécula do ligante com objetivo de reduzir a energia estérica da estrutura química molecular que corresponde ao seu mínimo local (estrutura química mais estável) (SANT'ANNA, 2009).

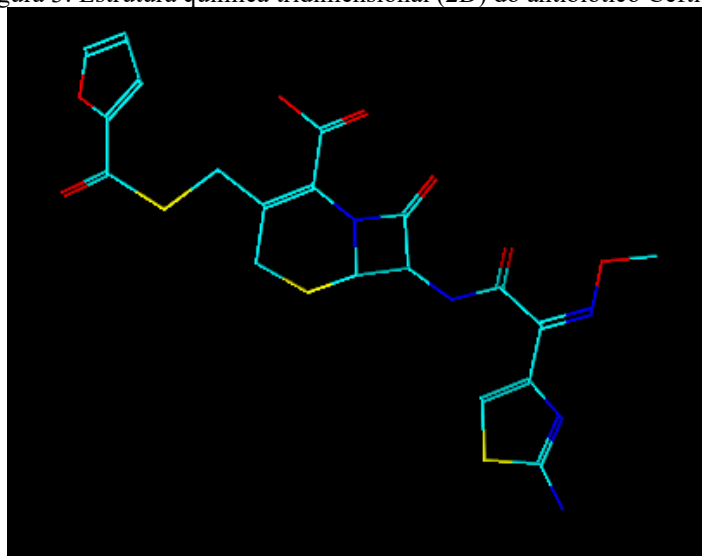
Na etapa de Modelagem Molecular para a estrutura química do antibiótico Cefquinoma, a estrutura química minimizada foi salva em arquivo do tipo MDL molfiles (.mol) e as energias estéricas foram tabeladas para estudos posteriores. As figuras 2 e 3 representam respectivamente, a estrutura química do desenho bidimensional (2D) e do desenho tridimensional (3D) e da molécula do antibiótico Ceftiofur.

Figura 2: Estrutura química bidimensional (2D) do antibiótico Ceftiofur



Fonte: Próprio autor, (2024) – Programa ChemSketch® Freeware versão 2021.

Figura 3: Estrutura química tridimensional (2D) do antibiótico Ceftiofur



Fonte: Próprio autor, (2024) – Programa ChemSketch® Freeware versão 2021.

3.2 ESTUDO TOXICOLÓGICO *IN SILICO* AMBIENTAL

O estudo da toxicidade ambiental *in silico* de antibióticos é de grande importância para o planejamento racional de novos medicamentos, pois permite prever o impacto desses fármacos nos ecossistemas. Neste trabalho, foram avaliados parâmetros como a capacidade de biodegradação ambiental, toxicidade em abelhas, toxicidade aquática em crustáceos e toxicidade aquática em peixes. Os resultados preliminares estão apresentados na Tabela 1, de forma qualitativa [(Q – P: positivo ou N: negativo)] e quantitativa (P = probabilidade).

Tabela 1: Avaliação do Perfil Toxicológico *in silico* Ambiental

Antibiótico	Biodegradação ambiental	Teste em abelhas	Toxicidade em crustáceos	Toxicidade em peixes

	Q	P	Q	P	Q	P	Q	P
Ceftiofur	N	0,993	N	0,620	P	0,941	P	0,868

Fonte: Próprio autor, (2024) - Plataforma admetSAR® Versão. 2.0.

Q – Qualitativo: (Negativo: N), (Positivo: P); P: Probabilidade

A avaliação toxicológica ambiental (tabela 1) demonstrou que o antibiótico Ceftiofur apresenta toxicidade em peixes e crustáceos, já com relação às abelhas, o mesmo não apresentou toxicidade. O estudo também revelou que a estrutura química do antibiótico não sofre biodegradação ambiental, logo a mesma permanece inalterada no meio ambiente, contaminando assim o ecossistema aquático e toda a cadeia alimentar, inclusive o ser humano por intermédio dos alimentos contaminados.

3.3 ESTUDO FARMACOCINÉTICO *IN SILICO* PARA BIODISPONIBILIDADE ORAL

As análises para avaliar o perfil de biodisponibilidade oral se baseia na regra de Lipinski (Regra-dos-Cinco). Espera-se que um bom fármaco apresente levada taxa de absorção intestinal humana, solubilidade em líquidos teciduais e permeabilidade através de membranas biológicas. Os antibióticos que violam os critérios da Regra de Lipinski, não apresentam boa biodisponibilidade quando administrados por via oral (VEBER et al., 2002).

Na tabela 2 foram apresentados os seguintes descritores moleculares: 1) miLogP: Logaritmo do coeficiente de partição (medida de hidrofobicidade/hidrofilicidade molecular); 2) TPSA: Área topológica superficial polar (\AA^2); 3) PM: Peso molecular (Da), equivalente à massa molar (g/mol); 4) SALH: Sítios Aceptores de Ligações de Hidrogênio; 5) SDLH: Sítios Doadores de Ligações de Hidrogênio; 6) Violações: Número de violações quanto à regra de Lipinski. Importante ressaltar que a complementação da Regra de Lipinski, pode ser também realizada através de dois outros descritores moleculares para a biodisponibilidade oral humana pela Regra de Veber: 7) NLR: Número de ligações rotacionáveis; 8) VM: Volume molecular.

A tabela 2 revela que o ceftiofur viola três parâmetros de Lipinski que refere-se ao peso molecular (PM), Sítios Aceptores de Ligação de Hidrogênio (ALH) e a Área Topológica Superficial Polar (TPSA), portanto o antibiótico não deve ser administrado por via oral humana, porém ainda pode ser administrado por administração intravenosa ou intramuscular.

Tabela 2: Avaliação do Perfil de Biodisponibilidade Oral.

Antibiótico	miLogP	PM	DLH	ALH	TPSA	Violações*	NLR**	VM***
Ceftiofur	0,31	523,57	4	12	177,43	3	9	402,06

Fonte: Próprio autor, (2024) - Plataforma Molinspiration Cheminformatics®.

* Violações: Violações à Regra de Lipinski; ** NLR: Número de Ligações Rotacionáveis; *** VM: Volume Molecular.

Para melhor compreensão quanto aos critérios da Regra de Lipinski para a predição do perfil de biodisponibilidade oral humana tem-se:

- 1) Logaritmo do Coeficiente de Partição octanol-água ($\text{Log P} = \text{miLogP}$) ≤ 5 : descritor molecular de natureza hidrofílica/hidrofóbica. Esta propriedade molecular está relacionada com a absorção intestinal do antibiótico, biodisponibilidade ao ser administrado por via oral humana, interações hidrofóbicas/hidrofílicas ligante-receptor e também com o processo de metabolização molecular. A Cefquinoma apresentou valor menor do que cinco (5), o que significa que o composto não violou a regra de Lipinski.
- 2) Peso Molecular (PM) ≤ 500 Da (Dalton): o antibiótico possui peso molecular maior do que 500 Da, portanto representa violação à regra de Lipinski. Além disso, tal parâmetro está associado à capacidade de absorção e permeação pelas membranas biológicas. Logo, a absorção, a permeabilidade e a biodisponibilidade diminuem com o aumento da massa molecular.
- 3) Sítios Doadores de Ligações de Hidrogênio (SDLH) ≤ 5 : o antibiótico possui valor menor do que cinco (5), portanto não violou a Regra de Lipinski.
- 4) Sítios Aceptores de Ligações de Hidrogênio (SALH) ≤ 10 : o antibiótico possui valor maior do que dez (10), portanto representa violação à regra de Lipinski. Essa propriedade, é extremamente importante para a avaliação da atividade biológica do fármaco e xenobióticos, visto que muitas interações intermoleculares são representadas por interações hidrogênio. Portanto, é desfavorável para um fármaco realizar muitas interações de hidrogênio, uma vez que isso afetaria inversamente o grau de permeabilidade e também a absorção (BARBOSA, 2020).
- 5) Área Topológica Superficial Polar (TPSA) $\leq 140 \text{ \AA}^2$: descritor relacionado como a soma das superfícies polares dos átomos ligados aos hidrogênios na molécula (geralmente flúor, oxigênio e nitrogênio). O antibiótico em estudo possui valor TPSA superior a 140 \AA^2 , portanto, como esse é um descritor físico-químico relacionado à ligação de hidrogênio, valores altos de TPSA ($>140 \text{ \AA}^2$) são indicativos de redução da permeabilidade e da biodisponibilidade. Além disso, tal resultado expressa também, violação da regra de Lipinski (MOTTA et al., 2023), (ARAUJO et al., 2022).

3.4 ESTUDO FARMACOCINÉTICO *IN SILICO* HUMANO (ADME *IN SILICO*)

O primeiro parâmetro descrito na tabela 3 se refere à BBB (*blood-brainbarrier*) propriedade molecular relacionada com a permeabilidade via células endoteliais e que indica a restrição do composto quanto à passagem da corrente sanguínea para o Sistema Nervoso Central (SNC) (SHARMA et al., 2016), (DOLABELA et al., 2018). É um descritor utilizado para avaliar a permeabilidade pela barreira hematoencefálica (BHE). A barreira hematoencefálica (BHE) possui elevada impermeabilidade e seletividade, regulando o transporte de substâncias químicas entre o sangue e o Sistema nervoso Central (SNC). A BHE é essencial para a função normal do cérebro, uma vez que, protege o SNC de substâncias potencialmente neurotóxicas presentes no sangue (BASTOS et al., 2020). O valor encontrado no presente estudo para o Ceftiofur foi de 0,988 (98,80%), indicando que o fármaco atravessa de forma muito reduzida a BHE, logo não possui ação no sistema nervoso central, corroborando para a segurança de seu uso, já que é interessante que um fármaco não atravesse a BHE com facilidade, uma vez que essa permeabilidade pode ocasionar o aparecimento de efeitos adversos no SNC (FELICE et al., 2020).

A avaliação do descritor molecular HIA (*human intestinal absorption*) demonstra quantitativamente absorção intestinal do fármaco. Esse parâmetro é classificado de acordo com a taxa de absorção intestinal: 0 a 20% baixa taxa de absorção, 20 a 70% taxa de absorção moderada e 70 a 100% elevada taxa de absorção (YAKAIAH et al., 2015).

O valor de HIA para o ceftiofur mostrou-se positiva, com moderada taxa de absorção, 50,8%, indicando a somatória da taxa de absorção intestinal com a biodisponibilidade da fração inalterada do análogo que alcança a circulação sistêmica, ou seja, a porcentagem da dose que foi administrado via oral e que chega ao sistema porta hepático (WANG et al., 2015). O valor ideal de HIA dependerá da finalidade farmacêutica do fármaco utilizado e das necessidades da patologia estudada (DOLABELA et al., 2018). Entretanto, em caso de medicamentos administrados pela via oral, o ideal é que ele tenha uma boa absorção intestinal.

Como a Absorção Intestinal Humana (HIA), descreve a combinação da taxa de absorção e da biodisponibilidade absoluta do fármaco que chega à circulação sistêmica, quando administrado oralmente, a concentração do fármaco raramente atinge 100% devido à absorção incompleta e à eliminação resultante do efeito de primeira passagem no fígado (biotransformação hepática) (FONSECA, 2023), (HOU, 2008), (ARAUJO et al., 2022), (MOTTA et al., 2023). 3

A glicoproteína P (Gp-P) é um descritor seletivo relacionado com a entrada de xenobióticos no tecido, sendo responsável pelo efluxo de compostos químicos do meio intracelular para o meio extracelular, com função de impedir a entrada de fármacos na célula ou promover a eliminação dos mesmos, dependendo da sua localização. (AMIN, 2013; GOLAN et al., 2017; SANTOS et al. 2022). A Gp-P, presente nas células epiteliais, possuem a função primordial na excreção e redução da

biodisponibilidade de vários análogos. Já a Gp-P, encontrada nos capilares dos vasos cerebrais, atua como mecanismo de defesa com a capacidade de retornar ao sangue substâncias químicas xenobióticas e que poderiam atravessar a BHE (CARREÑO, 2015). Com base nos resultados obtidos tem-se que o Cefotiofur não inibe a Gp-P com taxa de 86,6%. Segundo KÖNIG et al., (2013) a indução da expressão da Gp-P está ligada a diminuição da biodisponibilidade das drogas, enquanto o uso de inibidores desta bomba de efluxo leva ao aumento dos níveis plasmáticos (ARAUJO et al., 2022).

É possível estudar as vias de transporte de um fármaco utilizando-se a linhagem celular de Caco-2, adenocarcinoma de cólon humano, pois essas células quando diferenciadas possuem características morfológicas e bioquímicas que produzem semelhanças funcionais com o intestino delgado (diferenciação de maneira espontânea em células que mimetizam os eritrócitos), o que torna a sua aplicabilidade viável, principalmente pelo fato de possibilitar a identificação de possíveis problemas de permeabilidade de substâncias, bem como prever a absorção oral e os mecanismos de absorção que possam estar envolvidos (ARTURSSON et al., 2021; CHEN et al., 2012).

Permeabilidade pelas células epiteliais Caco-2, que é um parâmetro estimativo da permeabilidade intestinal em função da similaridade morfofisiológica com os enterócitos humanos. Este método *in vitro* que permite avaliar a capacidade de absorção intestinal de fármacos e drogas (FONSECA, 2023) e (MOTTA et al., 2023). Neste estudo a permeabilidade de Caco-2 foi de 0,756, o que representa baixa absorção oral. Já a distribuição ocorre via membrana plasmática, com probabilidade de 34,9%.

Tabela 3: Avaliação do Perfil Farmacocinético *in silico* humano (ADME *in silico*).

Antibiótico	BBB		HIA		Distribuição		Inibidor da glicoproteína-P		Caco-2	
	Q	P	Q	P	O	P	I	P	Q	P
Cefotiofur	N	0,988	P	0,508	membrana plasmática	0,349	N	0,866	N	0,756

Fonte: Próprio autor, (2024) - Plataforma admetSAR® Versão. 2.0.

Q – Qualitativo: (Negativo: N), (Positivo: P); P: Probabilidade.

O estudo *in silico* ADME humano sobre a metabolização hepática visa prever a capacidade inibitória das isoenzimas do complexo citocromo P450 (CYP450), fornecendo informações se o antibiótico inibe alguma isoenzima (I: S = sim ou N = não) e a probabilidade dessa inibição (P). A Tabela 4 apresenta a avaliação preditiva da farmacocinética *in silico* do antibiótico Cefotiofur, detalhando seu potencial inibição e interação com as isoenzimas hepáticas do complexo CYP450.

Tabela 4: Avaliação do Perfil Farmacocinético *in silico* Humano (ADME *in silico*) inibitório das isoenzimas do complexo citocromo P450 (CYP450).

	CYP450 1A2		CYP450 2C9		CYP450 2D6		CYP450 2C19		CYP450 3A4	
	I	P	I	P	I	P	I	P	I	P
Antibiótico										
Ceftiofur	N	0,784	N	0,786	N	0,886	N	0,760	N	0,714

Fonte: Próprio autor, (2024) - Plataforma admetSAR® Versão. 2.0.

Q – Qualitativo: (Negativo: N), (Positivo: P); P: Probabilidade

I: Inibição – (Negativo), + (Positivo); P – Probabilidade.

O metabolismo de fármacos envolve um conjunto de reações químicas que modificam as moléculas e, em geral, as convertem numa molécula mais solúvel para que possa ser excretada com maior facilidade. Esse processo também é conhecido como biotransformação hepática. O fígado é o órgão responsável pela metabolização de um fármaco, devido a presença de uma grande quantidade de enzimas metabólicas, as quais transformam o fármaco em metabólitos ativos, inativos e/ou facilita a sua eliminação (GUIMARÃES; SOARES, 2006).

A maioria dos produtos farmacêuticos humanos é excretado do corpo através de reações metabólicas catalizadas pelos sistemas enzimáticos citocromo P450 (CYP450) e uridina-5'-difosfoglucuronosiltransferase (UGT) (FROMM et al., 2013). O complexo citocromos (CYP450) pertence à família de proteínas que metabolizam substâncias endógenas e exógenas, tornando-as mais polares e hidrossolúveis. Os fármacos e outras substâncias podem induzir ou inibir essa enzima, o que pode resultar em interações entre fármacos, que conseqüentemente podem diminuir a eficácia ou aumentar a toxicidade de uma substância (AKRAM et al., 2024).

Existem isoenzimas do complexo citocromo P-450, as quais atuam no metabolismo de medicamentos e outras substâncias, como por exemplo CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 e CYP3A4, contribuindo assim com maior frequência no metabolismo da maioria dos medicamentos. No estudo em questão observou-se que o Ceftiofur não possui a capacidade de inibir nenhuma das cinco isoenzimas do complexo citocromo P450 (CYP450) analisadas. Logo, o antibiótico não interfere na metabolização hepática, propiciando a excreção de compostos xenobióticos e/ou lipofílicos do organismo (GALLI & FEIJOO, 2002; DIBAEI et al., 2024). Compostos químicos que conseguem inibir alguma isoenzima hepática podem desencadear uma série de processos bioquímicos e efeitos adversos, afetando a metabolização hepática de outros medicamentos, levando à formação de metabólitos tóxicos e causando alterações genéticas na formação de diversas enzimas (DEVLIN, 2002).

3.5 ESTUDO TOXICOLÓGICO *IN SILICO* HUMANO

O estudo toxicológico *in silico* humano foi conduzido com o objetivo de prever a toxicidade do antibiótico, considerando os três testes principais: teste de mutagenicidade (teste de Ames - T: tóxico; NT: não tóxico), teste de carcinogenicidade (C: carcinogênico; NC: não carcinogênico) e teste de toxicidade oral aguda em categorias (I, II, III e IV). O teste de AMES é um ensaio bacteriano que utiliza a cepa *Salmonella typhimurium* (TA100 e TA1535) para avaliar a mutagenicidade do antibiótico Cefotiofur (MIRANDA et al., 2021).

No desenvolvimento de um novo medicamento são realizados diversos testes para garantir que a sua composição possui os requisitos necessários para ser utilizado pela população, com o intuito de proporcionar qualidade, eficácia e segurança farmacológica. Dentre as análises destaca-se a avaliação da relação entre a mutagenicidade e genotoxicidade, onde é possível detectar os possíveis danos genéticos associados a doenças humanas. O teste de AMES (teste de mutagenicidade) deve ser aplicado a qualquer nova substância antes da mesma chegar à população (OECD, 1997).

O teste de AMES foi desenvolvido pelo Dr. Bruce Ames e colaboradores e desempenha um papel importante na toxicologia genética avaliando o potencial mutagênico/carcinogênico da substância testada e para isso utiliza-se cepas de *Salmonella typhimurium* auxotróficas para histidina, capazes de detectar mutações gênicas nas substâncias avaliadas (GONÇALVES, 2016). A obtenção de resultado positivo pelo teste de AMES representa um obstáculo, pois sugere que a substância analisada apresenta potencial carcinogênico. Entretanto, resultados negativos deram embasamento para o estudo de genotoxicidade em dose única (BRASIL, 2013; GONÇALVES, 2016).

A toxicidade que ocorre rapidamente após única exposição à substância química é considerada toxicidade oral aguda, no qual o contato do composto ocorre num período inferior a 24 horas. Essa toxicidade é classificada de acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA - *Environmental Protection Agency*: <https://www.epa.gov>) e classifica o antibiótico em quatro categorias distintas, de acordo com a DL50 (dose letal mediana): 1) Categoria I: $DL50 \leq 50$ mg/Kg; 2) Categoria II: $50 < DL50 < 500$ mg/Kg; 3) Categoria III: $500 < DL50 < 5.000$ mg/Kg; 4) Categoria IV: $DL50 > 5.000$ mg/Kg (GONÇALVES, 2011).

Tabela 5: Avaliação do Perfil Toxicológico *in silico* Humano.

Antibiótico	AMES	P	Carcinogênico	P	Toxicidade oral aguda	
Cefotiofur	NT	91,32%	NC	87,00%	IV	53,69%

Fonte Próprio autor, (2024) – Plataforma admetSAR® Versão. 2.0.

Q: Qualitativo; P: Probabilidade; C: Categoria.

Os resultados do perfil toxicológico *in silico* humano do Cefotiofur expostos na tabela 5 demonstram que o antibiótico em estudo não é tóxico (não mutagênico) com base no teste de AMES e também não apresenta propriedades carcinogênicas. Em relação à toxicidade oral aguda, o Cefotiofur é classificado na categoria IV. Isso significa que, em sistemas de classificação de toxicidade, a categoria IV apresenta baixa toxicidade, sugerindo que, quando ingerido em uma única dose, o Cefotiofur apresenta um risco relativamente baixo de causar efeitos adversos graves (GONÇALVES, 2011).

4 CONCLUSÃO

O Cefotiofur foi selecionado para estudo com o propósito de aprofundar na compreensão de sua farmacocinética e toxicidade, devido à sua ampla utilização e reconhecimento na pecuária bovina. No presente estudo, foram empregadas metodologias *in silico* para prever as propriedades moleculares do antibiótico Cefotiofur. O estudo toxicológico *in silico* ambiental revelou que o Cefotiofur não é tóxico para abelhas, mas apresenta toxicidade para peixes e crustáceos, e a sua estrutura química não se degrada no ambiente. Assim, além de poluir os ambientes aquáticos, afetando crustáceos e peixes, a estrutura química do antibiótico permanece inalterada no meio ambiente, contaminando a cadeia alimentar e, eventualmente, os seres humanos através da alimentação. A análise ADME *in silico* indicou que o antibiótico não apresenta uma previsão favorável para biodisponibilidade oral, devido às violações dos critérios de Lipinski relacionados ao peso molecular (PM), ao número de locais aceptores de ligação de hidrogênio (ALH) e área topológica superficial polar (TPSA), com uma taxa de absorção intestinal moderada e ausência de permeabilidade através da barreira hematoencefálica. Adicionalmente, o estudo farmacocinético *in silico* revelou que o Cefotiofur não possui capacidade inibitória sobre nenhuma das cinco isoenzimas hepáticas do complexo citocromo P450 (CYP450). O estudo toxicológico *in silico* humano apresentou resultados promissores, demonstrando que o antibiótico não é tóxico (não mutagênico) no teste de AMES, não possui propriedades carcinogênicas e classificado na categoria IV para toxicidade oral aguda, indicando baixa toxicidade. Além disso, é importante destacar que os resultados indicam que o antibiótico Cefotiofur contribui para a contaminação ambiental e humana. Portanto, é essencial realizar mais estudos sobre o fármaco para avaliar seus impactos adicionais no ser humano e nos ecossistemas. A continuidade desta pesquisa é necessária para aprofundar a compreensão desses efeitos.



REFERÊNCIAS

ACD/Advanced Chemistry Development, Inc. ChemSketch® Freeware, versão 2021.

AKRAM, M. Z.; SUREDA, E. A.; CORION, M.; COMER, L.; EVERAERT, N. Linking gastrointestinal tract structure, function and gene expression signatures to growth variability in broilers: a novel interpretation for flock uniformity. *Poult Sci.* v.2, n.10, p. 104158, 2024.

AMARANTE, J. C.; KOLLING, L.; FERRONATO, A. I.; VARGAS, A. C.; COSTA, M. M.; AMARANTE, T. A. B. Antimicrobial drugs resistance of bacteria from carp (*Cyprinus carpio*) raised in a semi-intensive system. *Brazilian Animal Science*, 2018.

AMIN, L. P-glycoprotein inhibition for optimal drug delivery, *Drug Targets Insights*, 7, p. 27-34, 2013.
ARAUJO, L. F.; PINTO, C. H. S.; MOTTA, L. F. *In silico* pharmacokinetic and toxicological study of Cinnamic Acid analogues. *Brazilian Journal of Development*, v. 8, p. 80800-80817, 2022.

ARTURSSON, P.; PALM, K; LUTHMAN, K. Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, p. 280-289, 2012.

ASHORAJ, Y.; DEY, C. S.; PANCHAGNULA, R.; VARMA, M. V. S. P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacol. Res.*, 48 (4), p. 347-359, 2003.

BARBOSA, I. A. P. Estudo dos descritores moleculares dos fármacos usados como modelo de substratos e inibidores de CYP3A4. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, RJ, Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia), 2020.

BASTOS, K. Z. C.; CORTÊZ, A. H. S.; CORTÊZ, T. H. C.; PINTO, I. S.; SOUSA, J. A. *In silico* analysis of the pharmacokinetic and toxicological profile of drugs in research for the treatment of COVID-19. *Research Society and Development*, v.9, n. 11, p. e529119450, 2020.

BOXALL, A.B.A.; JOHNSON, P.; SMITH, E.J.; SINCLAIR, C.J.; STUTT, E. & LEVY, L.S. Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *J. Agric. Food Chem.*, 54:2288-2297, 2006.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Indústria farmacêutica tem mais 60 dias para adaptar-se às novas regras. Disponível em: <https://antigo.mma.gov.br/informma/item/9906-ind%C3%BAstria-farmac%C3%AAutica-tem-mais-60-dias-para-adaptar-se-%C3%A0s-novas-regras.html>. Acesso em: 29 ago. 2024.

BROWN, K. et al. Antimicrobial growth promoter use in livestock: a requirement to understand their modes of action to develop effective alternatives. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 49, n. 1, 12–24, 2017.

CARREÑO, F. O. Avaliação farmacocinética da quetiapina nanoencapsulada: modelo para estudo de delivery cerebral através de um nanocarreador polimérico. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

CEZÁRIO, S. P. S.; CORREA, G. V.; MOTTA, L. F. *In silico* pharmacokinetic and toxicological study of Flavone analogues. *Brazilian Journal of Development*, v.8, n.12, p. 80782-80799, 2022.

CHEN, X.; SINGH, A.; KITTS, D. D. *In vitro* bioaccessibility and bioavailability of heavy metals in mineral clay complex used in natural health products. *Scientific Reports*, v.10, n.1, p. 1-10, 2020.

DE SOUZA, M. I. A.; LAGE, M. E.; PRADO, C. S. Resíduos de antibióticos em carne bovina. Centro científico conhecer, v. 9, p. 1917, 2013.

DEVLIN, THOMAS. Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas. 6a ed. Editora Blucher, 2002.
DÍAZ-CRUZ, M.S.; DE ALDA, M.J.L. & BARCELÓ, D. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. Trac-Trends Anal. Chem., 22:340-351, 2003.

DIBAEI, M.; HOSSEINI, A.; LAVASANI, H.; KIANI-DEHKORDI, B.; ROUINI, M. Assessment of metabolic interaction between curcumin and tramadol using the isolated perfused rat liver. Heliyon. v. 23, n. 10, p. e35070, 2024.

DOLABELA, M. F.; SILVA, A. R. P. D.; OHASHI, L. H.; BASTOS, M. L. C.; SILVA, M. C. M. D.; VALE, V. V. Estudo *in silico* das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. Revista Fitos, 2018.

FELICE, F. G.; MOLL, F. T.; MOLL, J.; MUNOZ, D. P.; FERREIRA, S. T. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and the Central Nervous System. Trends in Neurosciences, v. 43, n. 6, p. 355-357, 2020.

FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicologia de produtos farmacêuticos humanos. Toxicologia aquática, v. 76, p. 122–159, 2006.

FONSECA, E. G. M.; MOTTA, L. F. *In silico* pharmacokinetic and toxicological evaluation of Cephalonium antibiotic in human and environmental health. A LOOK AT DEVELOPMENT. 1ed. Curitiba: SEVEN PUBLICAÇÕES ACADÊMICAS., v. 1, p. 1-16, 2023.

FROMM, M.; KÖNIG, J.; MÜLLER, F. Transporters and drug-drug interactions: importante determinant of drug disposition and effects. Pharmacol Reviews, v. 65, p. 944-966, 2013.

GALLI, E.; FEIJOO, L. Citocromo P-450 y su importancia clínica revisión actualizada. Revista de Neuropsiquiatria, 2002.

GOLAN, D. E.; TASHJIAN JR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. Princípios de Farmacologia: a base fisiopatológica da farmacologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

GONÇALVES, L.S.D.G. Teste de Ames: Contributo para o estudo da genotoxicidade das águas. Lisboa, PO, Dissertação de Mestrado. 2016.

GONÇALVES, N. Z. Avaliação da Toxicidade Oral Aguda e Atividade Diurética de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent Goiânia, GO, 2011. Dissertação de Mestrado.

GROB, S. Molinspiration Cheminformatics: Cheminformatics on the Web, NOVARTIS: Bratislava University, Slovak Republic, 1986.

GUIMARÃES, S.; MOURA, D.; SILVA, S. P. Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas. Manual de farmacologia e farmacoterapia, 5ª Edição, Porto Editora, Porto, 2006.

HALLING-SØRENSEN, B.; NIELSEN, S.N.; LANZKY, P.F.; INGERSLEV, F.; LÜTZHOFT, H.C.H. & JØRGENSEN, S.E. Occurrence, fate and effects of pharmaceuticals in the environment. A review. Chemosphere, v.36, p. 357-393, 1998.

- HERNÁNDEZ, F et al. Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS. Trends in Analytical Chemistry, v. 26, n. 6, p. 466-485, 2007.
- HOU, T.; WANG, J. Structure-ADME relationship: still a long way to go? Expert Opin. Drug Metab. Toxicol., v.4, p.759 – 770, 2008.
- KANAZAWA, T. Development of noninvasive drug delivery systems to the brain for the treatment of brain/central nervous system diseases. Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, v.138, p.443-450, 2018.
- KEMPER, N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. Ecol. Indic, v.8, p.1-13, 2008.
- KÖNIG, J.; MÜLLER, F.; FROMM, M. F. Transporters and drug-drug interactions: Important Determinants of drug disposition and effects. Pharmacological Rev., v. 65, p. c944-966c, 2013.
- MIGLIORE, L.; COZZOLINO, S. & FIORI, M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants. Chemosphere, v. 52, p.1233-1244, 2003.
- MIRANDA, C. C. S., SALAZAR, V. A. C., BRITO, M. D. R. M. Avaliação *in silico* da atividade antifúngica de compostos sulfurados presente na *Petiveria alliacea* L. Revista de Casos e Consultoria, v. 12, n. 1, 2021.
- MONTAGNERA, C. C.; VIDALA, C. ACAYABA, R. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. Química nova, v. 40, p. 1094-1110, 2017.
- MORRIS, G. M.; LIM-WILBY, M.. “Molecular Docking.” Methods in Molecular Biology, Clifton, N.J., v. 443, p. 365–82, 2008.
- MOTTA, L. F.; CORREA, G. V.; CEZÁRIO, S. P. S. Análise Farmacocinética e Toxicológica *in silico* para Derivados de Flavonas. Open Science Research X, Editora Científica Digital. Curitiba, v. 10, p. 177-191, 2023.
- MOTTA, L. F.; SOUZA PINTO, C. H.; ARAUJO, L. F. Análise Farmacocinética e Toxicológica *in silico* para Derivados do Ácido Cinâmico. Open Science Research X, Editora Científica Digital. Curitiba, v. 10, p. 751-765, 2023.
- OLIVEIRA, J. M. B. et al. Análise dos fatores de riscos associados à mastite bovina no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco. Veterinária e Zootecnia, Botucatu, v. 18, n. 4, p. 1079-1082, 2011.
- ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). OECD Guidekine for the testing of chemicals: Acute oral toxicity- Acute toxic class method. Paris, Guideline n. 423, 1996.
- SANT’ANNA, C. M. R. Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: uma introdução. Rev. Virtual Quim., v.1, n.1, p. 49-57. 2009.
- SANTOS, P.; JÚNIOR, R.; ZEPEDA, A. T.; SANTOS, C.; PINTO, L.; CABRAL, L.; SOTO, C. A. T. Análise *in silico* do perfil farmacocinético e toxicológico do complexo tioglicolato de zinco II [Zn(ATG)₂(OH)₂]. Research Society and Development., v. 11, n. 6, p. e 4411629430, 2022.



SARMAH, A.K.; MEYER, M.T. & BOXALL, A.B.A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (Vas) in the environment. *Chemosphere*, 65:725-759, 2006.

SHARMA, G.; LAKKADWALA, S.; MODGIL, A.; SINGH, J. The role of cell-penetrating peptide and transferrin on enhanced delivery of drugs to the brain. *International journal of molecular sciences*, v.17, n.6, p.806, 2016.

VEBER, D. F.; JOHNSON, S. R.; CHENG, H-Y.; SMITH, B.R.; WARD, K. W.; KOPPLE, K. D. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.*, v.45, p.2615-2623, 2002.

WANG. Y.; XING J.; XU Y.; ZHOU N.; PENG J.; XIONG Z.; LIU X.; LUO X.; LUO C.; CHEN K.; ZHENG M.; JIANG H. *In silico* ADME/T modelling for rational drug design. *Quart. Rev. Biophys.*, v.48, p.488–515, 2015.

YAKAIAH, C., SNEHA, T., SHALINI, T., SRINIVAS, C., ANAND, K. D., NIRANJANA, K. A., SRINIVAS. K. V. N. S., SARFARAZ. A., KOTESH. K. J., FERAZ. K., ASHOK. T. P. G. Synthesis, docking and ADMET studies of novel chalcone triazoles for anti-cancer and anti-diabetic activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.93, p.564-573, 2015.

YANG, H.; SUN, L.; LI, W.; LIU, G.; TANG, Y. *In silico* prediction of chemical toxicity for drug design using machine learning methods and structural alerts. *Front. Chem.*, v.6, p.30, 2018.