


AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA IN SILICO HUMANA E AMBIENTAL PARA O ANTIBIÓTICO ENROFLOXACINA

 <https://doi.org/10.56238/sevened2024.037-144>

José Felipe Leite Ferreira Rosa

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

Laura Faria Araujo

Graduanda em Engenharia Química
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais - IFNMG
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
Grupo de Química Medicinal e Tecnologias Computacionais Avançadas.
E-mail: lud.c.m.prates@gmail.com

Luiz Frederico Motta

Doutor em Química Medicinal pela Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP - São Paulo - SP.
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais - IFNMG
Líder do Grupo de Química Medicinal e Tecnologias Computacionais Avançadas
E-mail para correspondência: luiz.motta@ifnmg.edu.br

RESUMO

A Enrofloxacin é um antibiótico veterinário eficaz no tratamento de infecções bacterianas em animais de produção, como gado, suínos e aves, devido ao seu amplo espectro de ação contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Este fármaco, pertencente à classe das fluorquinolonas, é sintetizado exclusivamente para uso veterinário e atua inibindo a DNA-girase, uma enzima essencial para a replicação do DNA bacteriano. No entanto, o uso da Enrofloxacin apresenta desafios, como a geração de resíduos que contaminam o meio ambiente, afetando tanto solos quanto águas. Além disso, esses resíduos podem entrar na cadeia alimentar, contaminando os seres humanos. A ausência de estudos específicos sobre a farmacocinética e toxicidade da Enrofloxacin, tanto em humanos quanto no ambiente, agrava esses desafios. Para tal estudo foi realizada a modelagem computacional da estrutura química bidimensional (2D) da Enrofloxacin, seguido da visualização tridimensional (3D). Posteriormente, foram conduzidas avaliações toxicológicas in silico ambiental e humana, a fim de determinar os possíveis impactos tóxicos do antibiótico. Observou-se que a enrofloxacin contribui para a contaminação ambiental e humana, destacando a importância de realizar estudos adicionais para avaliar os seus impactos nos seres humanos e no meio ambiente.

Palavras-chave: Enrofloxacin. Antibiótico Veterinário. Contaminação Ambiental. Toxicidade *in silico* humana e ambiental.

1 INTRODUÇÃO

O aumento populacional e a expansão da atividade industrial resultaram em níveis elevados de contaminação do ar, do solo e das águas em diversas partes do mundo. Em vista disso, a crescente preocupação com o meio ambiente, que, embora exista há décadas, nunca esteve tão em evidência como nos dias atuais (Melo et al., 2009).

Nesta corrida pela sustentabilidade em consonância com a Declaração dos Princípios Éticos, o dever de minimizar e prever impactos negativos para as gerações presentes e futuras impõe à classe da engenharia, a ciência de sua responsabilidade e visibilidade social, um papel central no desenvolvimento de novas tecnologias e processos mais eficientes e integrados (Oliveira, 2022).

O desafio da engenharia com os efluentes é uma questão crítica na preservação ambiental e na sustentabilidade industrial. Efluentes, que são subprodutos líquidos ou gasosos gerados por processos industriais, podem conter uma ampla gama de contaminantes, incluindo a presença de fármacos. Impreterivelmente, têm sido detectadas quantidades de antibióticos em esgotos, solos, águas superficiais e subterrâneas em diversas regiões do mundo (Frade, 2013).

Isso resultou, em normas e legislações cada vez mais rigorosas e para tal estão sendo implementadas para reduzir o impacto ambiental causado por esses efluentes (Nogueira e Jardim, 1998). No Brasil, os órgãos públicos dedicados ao meio ambiente têm se mobilizado para receber propostas de acordo setorial com o intuito de implementar um sistema de logística reversa para resíduos de medicamentos, desde 2014 (Brasil, 2024).

Essas políticas são essenciais no contexto brasileiro, considerando que se estima que a indústria farmacêutica no país inclua cerca de 600 empresas, abrangendo laboratórios, importadores e distribuidores. Segundo a Pesquisa Industrial Anual do IBGE (PIA-IBGE), em 2010, o setor farmacêutico era composto por 44 empresas no segmento farmoquímico e 500 laboratórios farmacêuticos (Brasil, 2024).

Mais do que isso, vale lembrar sobre a importância de que os fármacos humanos e veterinários desempenham papel crucial na sociedade, sendo fundamentais para a melhoria da qualidade de vida e o aumento da longevidade. Eles são essenciais para a maioria dos planos terapêuticos, tornando-se um recurso indispensável na medicina moderna (Bertoldi, 2016).

Uma vasta gama de medicamentos, pertencentes a diversas categorias farmacológicas, é consumida anualmente em todo o mundo. Esses compostos farmacêuticos englobam antipiréticos, analgésicos, reguladores lipídicos, antibióticos, antidepressivos, agentes quimioterápicos, contraceptivos, além dos medicamentos veterinários (Tambosi, 2008).

Nesse sentido, os efluentes onde os fármacos são descartados inadequadamente, provenientes tanto do consumo, onde uma parte significativa do princípio ativo é excretada pelo corpo humano para

o esgoto doméstico, quanto de ambientes hospitalares, industriais e domésticos, sendo uma das principais causas da presença desses resíduos em corpos hídricos (Gil e Mathias, 2005).

Para efluentes que contêm tais contaminantes, seria necessário um tratamento mais eficaz. No entanto, isso nem sempre acontece, já que os antibióticos não são removidos nas Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs), permitindo que eles cheguem ao meio ambiente (Kümmerer et al., 2010; Bila e Dezotti, 2003; Kümmerer, 2009; Pereira et al., 2012).

Quando os resíduos de antibióticos veterinários e humanos poluem o meio ambiente, a cadeia alimentar também é afetada. Outro desafio reside no fato de que, ao ingressar na cadeia alimentar, esses resíduos também contaminam o ser humano, e não existe na literatura estudos *in silico* farmacocinéticos e de toxicidade humana e ambiental específicos para o antibiótico. A Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) é uma excelente “ferramenta” de investigação para engenharia, visto que impulsiona a inovação e enfrenta os desafios técnicos e ambientais de forma eficaz, relacionados ao tratamento de efluentes e alinhado à Quimioinformática se torna fundamental às pesquisas utilizando metodologias *in silico* (Motta, 2023).

2 OBJETIVOS

O propósito desta pesquisa é realizar por intermédio da Quimioinformática as Metodologias *in silico*, com intuito de obter a predição Farmacocinética *in silico* Humana, além de realizar o estudo Toxicológico *in silico* Ambiental e Humano para o antibiótico Enrofloxacina.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

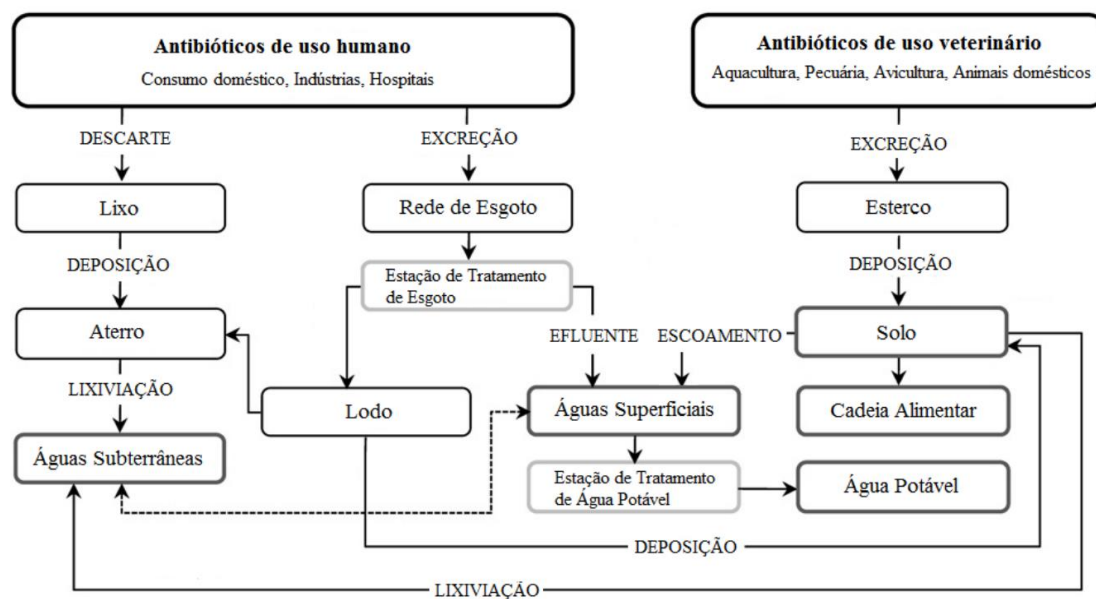
Os antibióticos, fundamentais no combate às infecções bacterianas e na redução da morbidade e mortalidade, representam uma ameaça global à saúde ambiental e humana devido ao seu uso crescente, impulsionado pelo aumento populacional (Guimarães et al., 2010).

Tendo em vista que são considerados como “perigosos” devido à sua atividade farmacológica, que resulta em metabolização resistente, bioacumulação, biomagnificação e ampla presença ambiental. Além disso, seus resíduos são liberados no meio ambiente em grandes quantidades sem tratamento adequado (Montagnera et al., 2017; Fent et al., 2006).

Inevitavelmente, pequenas quantidades de antibióticos vêm sendo detectadas nos esgotos, solo, águas superficiais e subterrâneas, em várias partes do mundo, como Alemanha, Brasil, Canadá, Holanda, Inglaterra, Itália, Suécia, Estados Unidos, Reino Unido (Frade, 2013). Desta forma contamina o ecossistema por algumas vias pelas quais os antibióticos podem entrar, conforme ilustrado na Figura 1. Os antibióticos destinados ao uso humano e veterinário podem ingressar no meio ambiente de duas maneiras principais: por meio da excreção após serem ingeridos, uma vez que o organismos

têm capacidade limitada de absorção dos compostos, ou pelo descarte incorreto de medicamentos (Pena et al., 2007; Guinea et al., 2009).

Figura 1: Rota de entrada de fármacos no meio ambiente



Fonte: Homem e Santos, 2011

Em geral, os efluentes são as principais fontes de contaminação dos recursos hídricos com fármacos (Mirzaei et al., 2017). Em razão dos medicamentos descartados chegarem às ETE's (Estação de Tratamento de Esgoto), as quais não possuem tratamentos capazes de decompor ou inativar os fármacos existentes no efluente, ou até mesmo podem ser diretamente lançados nos leitos de córregos, rios e lagoas. O meio aquático dos cursos hídricos é captado por estações de tratamento de água potável, que será distribuída para o consumo humano. O efluente de uma ETE ainda pode contaminar as águas subterrâneas (Balcioglu e Ötker, 2004; Tambosi, 2008; Homem e Santos, 2011; Bila, 2005).

O que preocupa, é que os antibióticos são formulados para combater bactérias, geralmente apresentam baixa biodegradabilidade, permanecendo inalterados após esse tipo de tratamento. Diversos tipos de medicamentos, como as fluoroquinolonas, possuem baixa afinidade com a água e permanecem preferencialmente adsorvidos no solo ou lodo, advindos das ETE's gerados pela digestão biológica e sendo utilizado como fertilizante pode ser depositado no solo. Quando o fármaco permanece no solo, ele pode ser transferido para os vegetais acometendo a base da cadeia alimentar, sendo que o ser humano estará ingerindo pequenas quantidades de medicamentos sem conhecimento (Ikehata Et Al., 2006; Kummerer, 2009; Homem e Santos, 2011).

Sabe-se, que os fármacos desempenham uma função essencial, mas, quando administrados em doses ou prescrições inadequadas, podem ser prejudiciais tanto para humanos quanto para animais (Kümmerer, 2010; Verlicchi, 2012). De acordo com Barceló (2003), os fármacos não precisam persistir no meio ambiente em resultando efeitos negativos. Portanto, em função da possibilidade de

contaminação do ambiente e do ser humano, os fármacos se enquadram em um grupo de substâncias conhecidas como micropoluentes emergentes, que são encontrados em matrizes ambientais e biológicas em concentrações muito baixas, mas potencialmente capazes de causar efeitos adversos ecológicos e/ou sobre a saúde humana (Silva, 2011; Aquino, et al, 2013; Sim 2010).

Além do mais, a resistência antibiótica é exacerbada pela administração de antibióticos a animais, cujos resíduos são transferidos para os humanos por meio da cadeia alimentar. Esse processo representa um grave problema de saúde pública (Costa, 2014).

3.1 ATIVIDADES ECONÔMICAS

A presença de antibióticos no meio ambiente pode ser atribuída ao uso extensivo desses medicamentos no agronegócio, o mesmo com o advento da globalização foi potencializado. No contexto do agronegócio brasileiro, especialmente o setor pecuário, experimentou um crescimento sem precedentes impulsionado pelos avanços tecnológicos. A intensificação da pesquisa genética, o controle aprimorado de pragas e a eficácia dos fármacos no tratamento de doenças animais contribuíram significativamente para essa expansão (Castro, 2023).

Dados da Embrapa (2022) mostram que, desde a década de 80, a produção de carne de aves aumentou 22 vezes, enquanto a carne suína, o leite e a carne bovina também apresentaram crescimento significativo. A produção anual de leite, por exemplo, duplicou desde 2002 devido à expansão do rebanho e à melhoria na produtividade das vacas.

Simultaneamente, o mercado de animais de estimação no Brasil, que movimentou mais de 40 bilhões de reais em 2022, tem acompanhado essa tendência de crescimento, juntamente com a tecnologia por trás da medicina veterinária, provendo recursos capazes de maximizar a prevenção, o tratamento de doenças agudas e crônicas de forma eficaz (Filho, et al., 2024).

Os tutores de animais de estimação investem cada vez mais em produtos e serviços para seus pets, o que reflete em aumento contínuo na demanda por cuidados e produtos de qualidade (Oliveira, 2022). De acordo com a ABINPET (Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação), o setor registrou aumento nas vendas e criação de empregos, mesmo em meio à crise econômica provocada pela pandemia de COVID-19.

No entanto, o crescimento do mercado pecuário e animais de estimação tem implicações significativas para a saúde pública e ambiental. O uso intensivo de antibióticos para tratamento quanto como promotores de crescimento, pode resultar em resíduos desses medicamentos nos produtos de origem animal (De Souza, 2013).

Em virtude disso, é necessário que se tenha uma regulamentação atual, como as normativas do MAPA (Ministério da Agricultura e Pecuária), que visa controlar o uso de antibióticos na alimentação dos animais, restringindo a utilização de certos medicamentos para evitar efeitos indesejados. A gestão

cuidadosa do uso de antibióticos é crucial para garantir a saúde animal e humana, mantendo a eficácia desses medicamentos e minimizando os riscos associados à resistência antibiótica (Gonçalves, 2011).

A fiscalização fica a cargo do órgão MAPA, no entanto, não é novidade que há debates e questionamentos sobre os possíveis impactos na efetividade da gestão ambiental e na proteção dos recursos naturais. Uma vez que muitos especialistas, ambientalistas e Organizações Não Governamentais (ONG's) ambientais vem questionando o fato de que o ministério, focado na promoção da agricultura e pecuária levantando preocupações sobre um possível conflito de interesses, já que o ministério tem como missão principal promover o agronegócio, o que poderia comprometer a imparcialidade na fiscalização de questões ambientais, apresentando uma fiscalização tendenciosa (Rodrigues, 2024).

3.2 ENROFLOXACINA

O início do uso das quinolonas ocorreu em 1962, quando Leshner e colaboradores descreveram o ácido nalidíxico, que foi o precursor das 4-quinolonas. No entanto, o entusiasmo por esses quimioterápicos diminuiu rapidamente devido ao seu espectro limitado de atividade antibacteriana, ao rápido surgimento da resistência e às limitações farmacocinéticas associadas (Bergan, 1988).

Alterações na estrutura dos grupos químicos associados ao núcleo fundamental de 4-quinolona resultaram em mudanças significativas na atividade antimicrobiana, nas propriedades farmacocinéticas e na toxicidade das quinolonas. As fluoroquinolonas, consideradas como evolução das quinolonas mais antigas, apresentam características farmacocinéticas superiores, o que as torna uma escolha eficaz no tratamento de infecções bacterianas (Machado, 2009).

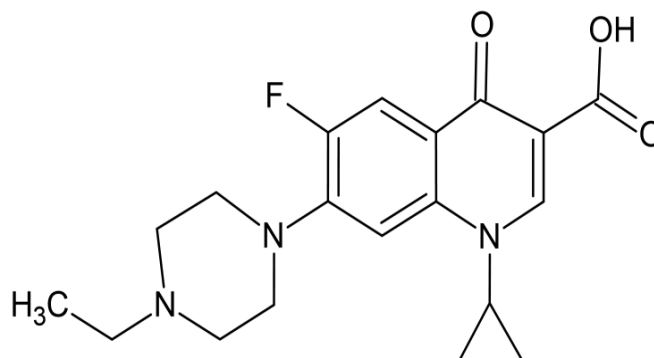
As fluoroquinolonas mais recentes apresentam um espectro de atividade mais amplo em comparação com as quinolonas mais antigas. Em termos gerais, elas demonstram uma elevada eficácia contra patógenos aeróbios Gram-negativos e possuem uma ação intermediária sobre cocos Gram-positivos. No entanto, as quinolonas, de modo geral, são menos eficazes contra estafilococos e estreptococos do que contra bactérias Gram-negativas. (Wolfson & Hooper, 1985).

Uma das características farmacocinéticas mais notáveis das fluoroquinolonas é seu amplo volume de distribuição, que inclui tecidos como o sistema nervoso central, ossos, próstata, rins, fígado, trato genital feminino e fluidos inflamatórios. Além disso, essas drogas possuem uma baixa afinidade de ligação com proteínas plasmáticas. Como resultado, a concentração das fluoroquinolonas livres no soro geralmente reflete bem as concentrações nos fluidos extracelulares, onde ocorrem a maioria das infecções. Essa ampla distribuição, combinada com seu espectro de atividade extenso, torna as fluoroquinolonas uma escolha preferencial para o tratamento de infecções profundas da pele e piodermas. (Cavalcante, 2009).

O ácido ciclopropil-7-(4-etil-1-piperazinil)-6-fluoro-1,4-diidro-4-oxo-3-quinoleína carboxílico), a enrofloxacina, mostrada na Figura 2, é um antimicrobiano sintético da segunda geração das fluoroquinolonas, sendo usada exclusivamente na medicina veterinária. Este fármaco age inibindo a enzima DNA girase bacteriana, possui um amplo espectro de ação e é indicada para tratar uma variedade de infecções causadas por bactérias gram-positivas, gram-negativas, micoplasmas e espiroquetas (Frade, 2013).

A partir do desenho bidimensional executado no programa ChemSketch® Freeware, versão 2021, pode-se afirmar que a molécula desse fármaco possui a seguinte porcentagem em massa: 63.50% de carbono (C), 6.17% de hidrogênio (H), 5.29% de flúor (F), 11.69% de nitrogênio (N) e 13.35% de oxigênio (O). Além disso, apresenta uma densidade de $1.385 \pm 0.06 \text{ g.cm}^{-3}$ e polarizabilidade de $36.78 \pm 0.5 \cdot 10^{-24} \text{ cm}^{-3}$. Tais informações são relevantes, já que fornecem informações adicionais no estudo das propriedades químicas, como sua massa por unidade de volume e sua capacidade de polarização, que pode afetar nas interações das moléculas do antibiótico com outras substâncias e seu comportamento em diferentes ambientes.

Figura 2: Desenho bidimensional (2D) do antibiótico Enrofloxacina ($\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_3$).



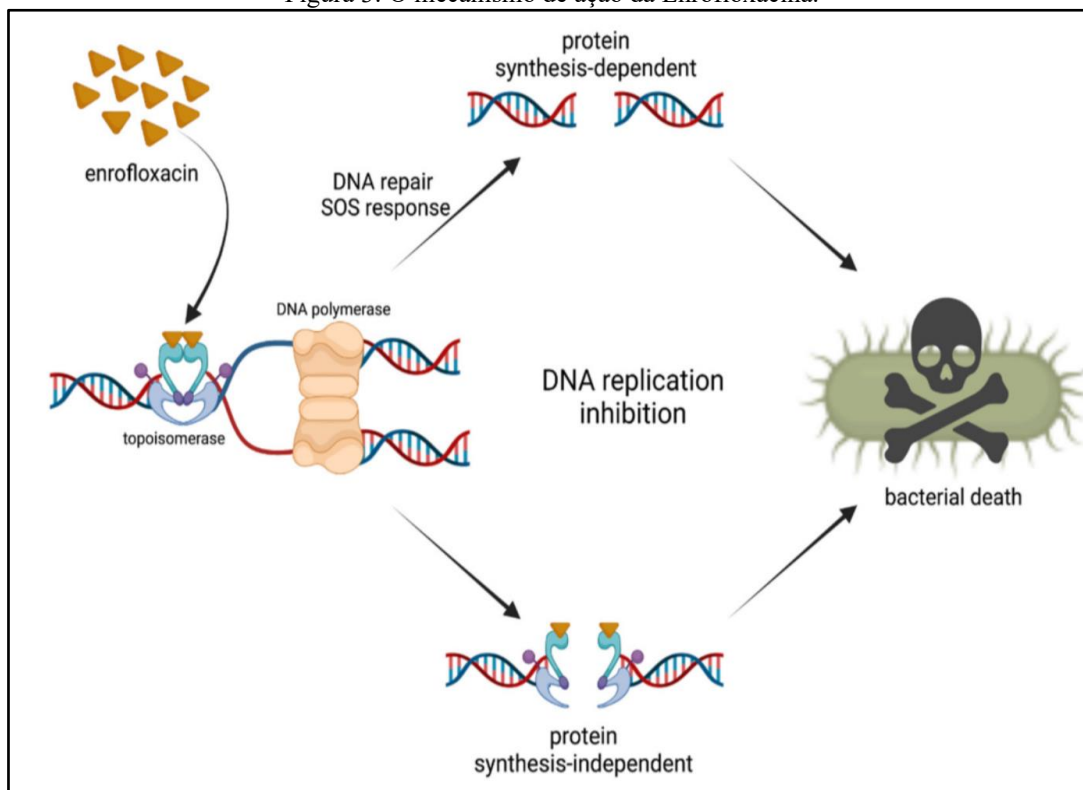
Fonte: ChemSketch® Freeware versão 2021.

As fluoroquinolonas são parcialmente biotransformadas, sendo excretadas na urina e na bile, em altas concentrações como substância ativa (Górniak, 2006). Todas as fluoroquinolonas, incluindo a enrofloxacina, são bactericidas e atuam sobre a mesma enzima bacteriana, a DNA girase (topoisomerase tipo II) (Vancutsem et al., 1990). As topoisomerases desempenham um papel essencial na direção e extensão do espiralamento das cadeias de DNA, facilitando a separação, o corte e o desenrolamento do DNA (Górniak, 2006).

A enrofloxacina se liga ao complexo DNA-topoisomerase (figura 3) no local de clivagem-ligação, induzindo alterações conformacionais na enzima. Isso resulta na inibição da replicação do DNA, uma vez que a clivagem do DNA não é eficazmente seguida pela sua ligação. Os fragmentos de DNA gerados são eventualmente eliminados pelas exonucleases bacterianas, levando à morte celular ou à ativação dos mecanismos de reparo do DNA e da resposta S.O.S. (principal paradigma de resposta

celular a danos no DNA em procaríotos), dependendo da concentração do fármaco conforme indicado na figura 3 (Kohanski et al., 2010).

Figura 3: O mecanismo de ação da Enrofloxacin.



Fonte: Kohanski et al., 2010.

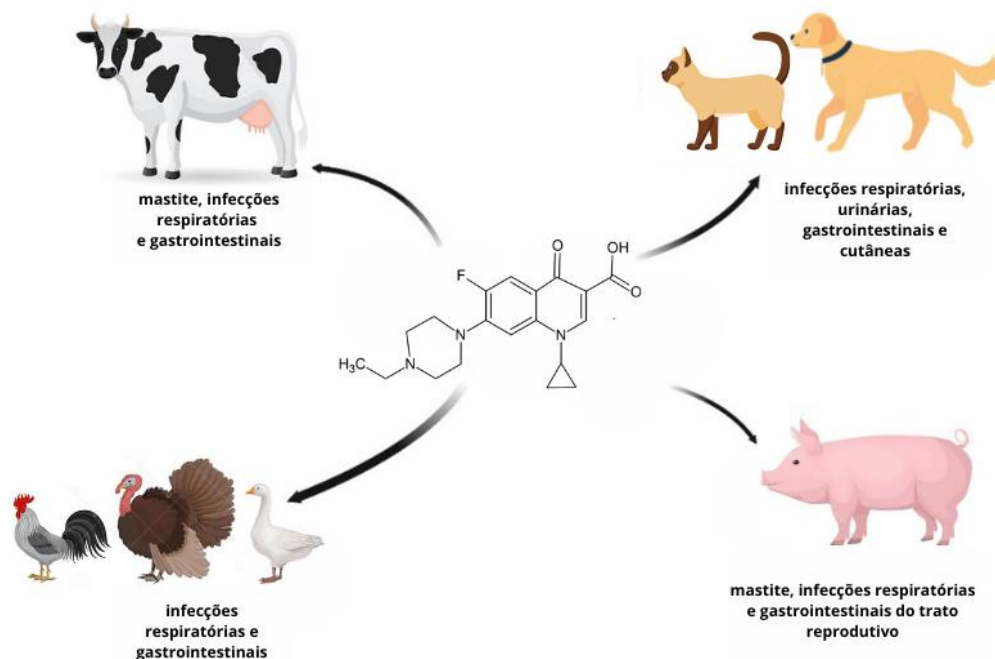
3.3 DOENÇAS ENROFLOXACINA

A enrofloxacin é um antibiótico de amplo espectro utilizado no tratamento de diversas infecções bacterianas em animais, como bovinos, aves, suínos, cães e gatos. Entre as condições tratadas com esse medicamento estão a mastite, uma inflamação das glândulas mamárias; infecções gastrointestinais, que podem afetar o trato digestivo; infecções respiratórias; e doenças de pele.

3.3.1 Mastite

A mastite, uma inflamação da glândula mamária causada principalmente por infecções bacterianas, é uma das principais patologias em rebanhos no Brasil, destacando-se os patógenos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* pela alta incidência e resistência. Além de comprometer a sustentabilidade da produção, a mastite gera perdas econômicas significativas, como a redução da produção de leite, custos com medicamentos e, em casos extremos, a perda do animal, reforçando a importância do controle eficaz e do uso adequado de antimicrobianos no tratamento (Castro, 2023).

Figura 4: Doenças em animais que podem ser tratadas com o uso de Enrofloxacin.



Fonte: Autor, 2024

3.3.2 Infecções Respiratórias

As doenças respiratórias em animais, assim como nos seres humanos, representam um desafio significativo para a saúde pública veterinária e animal. Essas doenças podem ser causadas por uma ampla gama de agentes patogênicos, incluindo bactérias, vírus e fungos, que afetam o trato respiratório de diversas espécies. A transmissão dessas doenças pode ocorrer por contato direto, aerossóis ou fômites, e os sintomas variam de acordo com o agente causador e a espécie afetada, podendo incluir tosse, espirros, secreção nasal e, em casos graves, pneumonia e dificuldade respiratória (Teixeira, 2020).

3.3.3 Infecções Gastrointestinais

As doenças gastrointestinais em animais são uma preocupação significativa tanto em sistemas de produção quanto em animais de companhia, afetando diversas espécies, como bovinos, suínos, gatos, cães e aves. Essas doenças podem ser causadas por uma variedade de agentes etiológicos, incluindo bactérias, vírus, parasitas e problemas alimentares. Uma das infecções gastrointestinais mais comuns é causada por bactérias do gênero *Campylobacter spp.*, conhecidas como campilobacterioses. Essas infecções são uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos (DTA) em humanos (Martins, 2023).

3.4 QUIMIOINFORMÁTICA

A Quimioinformática integra ciência da computação e química medicinal para prever e analisar descritores moleculares, facilitando o desenvolvimento de novos fármacos e otimização de compostos (Motta, 2023). Através de modelos computacionais e algoritmos avançados, a Quimioinformática facilita a compreensão das interações moleculares e a otimização de compostos para o desenvolvimento de novos fármacos, acelerando a descoberta e a melhoria de agentes terapêuticos. Essa abordagem tem sido fundamental para avançar a pesquisa e o desenvolvimento na área de química medicinal (Motta, 2023).

Métodos *in silico*, amplamente usados em farmacodinâmica, farmacocinética e toxicologia, oferecem vantagens como redução de custos e eliminação do uso de animais. Na toxicologia, os métodos *in silico* têm ganhado destaque na indústria farmacêutica devido à sua eficácia comprovada na previsão de efeitos tóxicos potenciais (Caiana, 2019). A Quimioinformática também contribui no controle do impacto ambiental dos antibióticos, ajudando a mitigar a resistência bacteriana e promovendo alternativas mais seguras (Yuan et al., 2011; Fink et al., 2012; Castro, 2023).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os cálculos, as simulações, modelagens computacionais e a predições de descritores moleculares, serão realizados nas instalações mais especificamente no Laboratório de Química Medicinal e Tecnologias Avançadas no *campus* Montes Claros do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (IFNMG).

4.1 MODELAGEM MOLECULAR COMPUTACIONAL

Esta fase envolveu-se inicialmente com a modelagem molecular da estrutura química da enrofloxacin, com a execução de suas representações bidimensional (2D) e tridimensional (3D), que deverão ser salvas em arquivos MDL molfiles (.mol). Em seguida, após gerar o código SMILES, esse algoritmo será utilizado para conduzir os estudos toxicológicos e farmacocinéticos *in silico* do fármaco. Será utilizado programa computacional: ChemSketch® Freeware versão 2021 (Advanced Chemistry Development, Inc., 2021).

4.2 PREDIÇÃO TOXICOLÓGICA *IN SILICO* AMBIENTAL PARA O ANTIBIÓTICO ENROFLOXACINA.

O presente estudo foi realizado com auxílio da plataforma internacional chinesa admetSAR® versão 2.0 (<http://lmmd.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).

4.3 PREDIÇÃO TOXICOLÓGICA *IN SILICO* HUMANA PARA O ANTIBIÓTICO ENROFLOXACINA.

O estudo foi realizado com auxílio da plataforma internacional on-line chinesa admetSAR® versão 2.0 (<http://lmmd.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).

5 RESULTADOS ESPERADOS

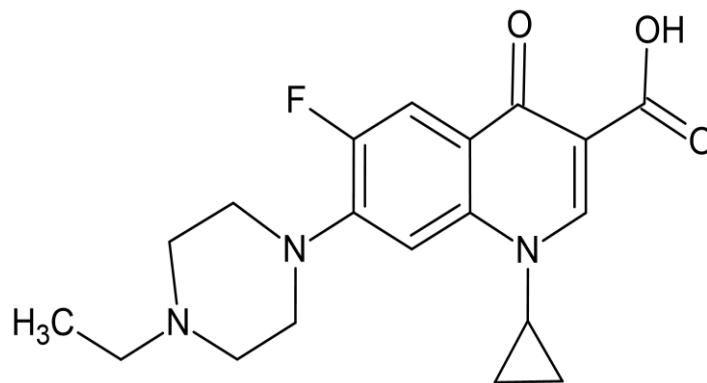
5.1 MODELAGEM MOLECULAR

O estudo de antibióticos requer um entendimento profundo da química medicinal, onde a precisão no desenho molecular é fundamental. Justificando, a utilização do programa software americano ACD/ChemSketch® Freeware versão 2021 (Advanced Chemistry Development, Inc., 2021), o qual oferece benefícios significativos nesse processo, pois permite a visualização de estruturas químicas de maneira detalhada e intuitiva (Flores e Mól, 2006).

Com suas ferramentas, os pesquisadores podem otimizar o design molecular, prever propriedades físico-químicas e facilitar a comunicação visual de complexas estruturas químicas (Batista, 2016). Permite ainda, a visualização bidimensional e tridimensional das estruturas moleculares, possibilitando uma melhor compreensão dos modelos utilizados, para representação de arranjos atômicos e processos relacionados a fenômenos químicos (Gilbert, et al., 2000).

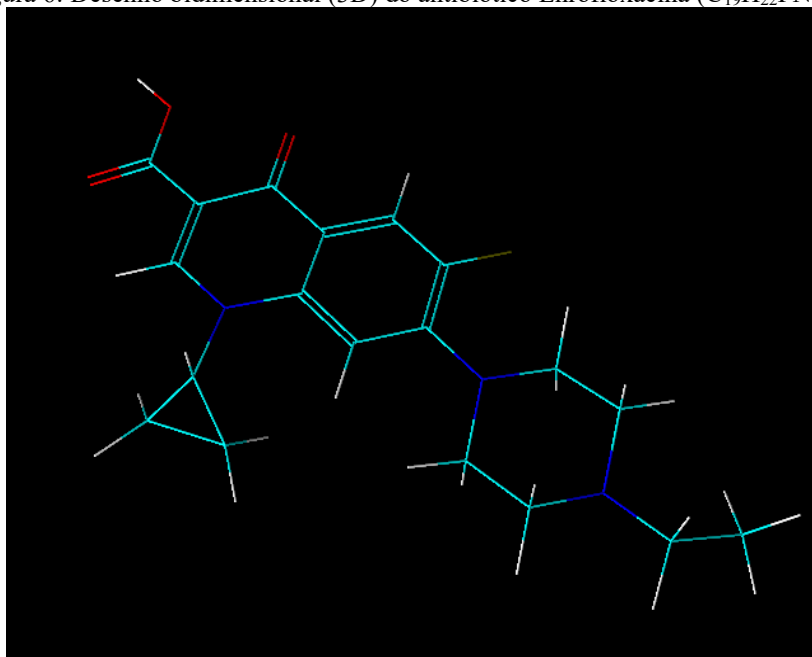
Após completar a etapa de Modelagem Molecular, que incluiu o Desenho 2D E Desenho 3D, da estrutura química da Enrofloxacin, todas as representações (2D e 3D) foram salvas em arquivos MDL molfiles (.mol). As figuras 5 e 6 mostram, respectivamente, as estruturas químicas em bidimensional (2D) e tridimensional (3D) do antibiótico Enrofloxacin. Gerando o código SMILES: OC(=O)C1=CN(c2cc(N3CCN(CC3)CC)c(F)cc2C1=O)C1CC1, o algoritmo permitiu a realização do estudo toxicológico e farmacocinético do fármaco em análise.

Figura 5: Desenho bidimensional (2D) do antibiótico Enrofloxacin ($C_{19}H_{22}FN_3O_3$).



Fonte: ChemSketch® Freeware versão 2021.

Figura 6: Desenho bidimensional (3D) do antibiótico Enrofloxacin (C₁₉H₂₂FN₃O₃).



Fonte: ChemSketch® Freeware versão 2021.

5.2 ESTUDO TOXICOLÓGICO *IN SILICO* AMBIENTAL

O estudo da toxicidade *in silico* ambiental é uma abordagem computacional utilizada para avaliar o potencial de toxicidade de substâncias químicas no meio ambiente. A partir do algoritmo obtido pode-se prever como uma substância pode interagir com o meio ambiente e com os organismos que compõem o ecossistema, além de colaborar para o planejamento racional de novos fármacos (Moschem, 2022), fornecendo dados existentes sobre a estrutura química das substâncias e seu comportamento em diferentes condições ambientais, prevendo o impacto de novos compostos antes de sua liberação no meio ambiente, identificando riscos potenciais para a saúde de organismos aquáticos, terrestres e para os ecossistemas em geral (Moschem, 2022).

Neste estudo, foram avaliados os seguintes parâmetros: capacidade de biodegradação no ambiente, toxicidade em abelhas, toxicidade aquática em *Tetrahymena pyriformis* e toxicidade aquática em peixes. Tais resultados foram expressos na tabela 1, sendo os dados qualitativos [(Q): positivo (P) ou negativo (N)], e os quantitativos no que tange à probabilidade (P).

Tabela 1: Avaliação do perfil Toxicológico *in silico* ambiental.

Biodegradação Ambiental		Toxicidade em Peixes		Toxicidade em <i>Tetrahymena Pyriformis</i>		Toxicidade em Abelhas	
Q	P	Q	P	Q	P	Q	P
N	100,00%	P	99,79%	P	95,94%	N	89,59%

Fonte: admetSAR®, versão 2.0

A avaliação da toxicidade ambiental, conforme mostrado na Tabela 1, revelou que o antibiótico Enrofloxacin não apresenta toxicidade para abelhas, mas é tóxico para peixes e para o organismo

unicelular *Tetrahymena pyriformis*. Além disso, a estrutura química do antibiótico não sofre biodegradação no meio ambiente. Isso significa que, além de poluir os ecossistemas aquáticos e afetar peixes e *Tetrahymena pyriformis*, a Enrofloxacin permanece inalterada no meio ambiente, contaminando a cadeia alimentar e, potencialmente, os seres humanos por meio dos alimentos contaminados.

5.3 ESTUDO TOXICOLÓGICO *IN SILICO* HUMANO

O estudo toxicológico *in silico* voltado para o organismo humano foi conduzido com o objetivo de prever a toxicidade do antibiótico. Para isso, foram considerados três testes fundamentais. O primeiro, foi o Teste de Mutagenicidade (teste de AMES), onde os resultados são classificados como Tóxico (T) ou Não Tóxico (NT). O segundo teste foi caracterizado pela Carcinogenicidade com as classificações Carcinogênico (C) ou Não Carcinogênico (NC). E, por último, foi feito o teste de Toxicidade Oral Aguda classificando-o em quatro categorias (I, II, III e IV) com base na severidade dos efeitos observados (Fonseca, 2023).

Esses testes são essenciais para prever possíveis riscos à saúde humana, oferecendo uma análise detalhada sobre a segurança do antibiótico em questão, antes de sua aplicação em contextos clínicos. A utilização de abordagens *in silico* é particularmente valiosa, pois permite uma avaliação inicial rápida e eficaz, economizando tempo e recursos em relação a métodos tradicionais (Fonseca, 2023).

O teste de AMES é altamente relevante, pois é capaz de identificar mutações no material genético que participa da síntese do aminoácido histidina (Kauffmann et al.; 2020). O teste de AMES é um ensaio bacteriano que investiga a mutagenicidade de compostos químicos utilizando as cepas de *Salmonella typhimurium* TA100 e TA1535 (Miranda et al., 2021).

A avaliação da Toxicidade Oral Aguda dos análogos, leva em consideração a classificação da Agência de Proteção Ambiental (EPA: Environmental Protection Agency) dos Estados Unidos, categoriza os compostos químicos com base na DL50 (dose letal mediana) e estão descritas na tabela 2 abaixo:

Tabela 2: Classificação do antibiótico, segundo Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos.

Categoria	DL50
I	inferior ou igual a 50 mg/kg
II	superior a 50 mg/kg e inferior a 500 mg/kg
III	superior a 500 mg/kg e inferior a 5.000 mg/kg
IV	superior a 5.000 mg/kg

Fonte: EPA-Environmental Protection Agency: <https://www.epa.gov>

Os compostos que se enquadram nas categorias I e II são considerados os mais tóxicos. A categoria I abrange aqueles com elevada toxicidade, representando um risco significativo à saúde, mesmo em doses baixas. Já os compostos da categoria II possuem toxicidade moderada, oferecendo um risco menor em comparação à categoria I, mas ainda exigem cautela devido ao seu potencial nocivo (Cheng, et al., 2012). A tabela 3, traz informações relevantes no que tange à avaliação do perfil toxicológico *in silico* humano.

Tabela 3: Avaliação do perfil Toxicológico *in silico* humano.

Teste AMES		Toxicidade Oral Aguda		Carcinogênico	
Q	P	C	P	Q	P
T	91,07%	III	80,00%	NC	86,49%

Fonte: admetSAR® versão 2.0

A tabela 3 fornece informações qualitativas (NT ou T; NC ou C) e quantitativas (P) sobre o perfil toxicológico *in silico* humano da Enrofloxacina. A análise desses dados revela resultados, indicando que o antibiótico não é tóxico, mutagênico quanto ao teste de Ames, e também não é carcinogênico. Em relação à toxicidade oral aguda, a Enrofloxacina está classificada na Categoria III, o que denota baixa toxicidade. Esses resultados são confirmados pela tabela 3 (Gonçalves, 2011).

6 CONCLUSÃO

A enrofloxacina é um antibiótico amplamente usado no mercado veterinário, reconhecido por sua alta biodisponibilidade e rápida ação terapêutica. Seu uso racional é fundamental para manter a eficácia no tratamento de infecções, minimizando impactos na saúde pública e ambiental.

Em estudos toxicológicos *in silico*, foi observado que a enrofloxacina não é tóxica para abelhas, mas representa risco para peixes e para o organismo unicelular *Tetrahymena pyriformis*. Além disso, sua estrutura química não é biodegradável, permanecendo no ambiente e contaminando ecossistemas aquáticos, o que pode afetar a cadeia alimentar e, eventualmente, a saúde humana por meio de alimentos contaminados.

Embora tenha sido comprovado que a enrofloxacina possui impactos ambientais, o estudo toxicológico *in silico* concluiu que o antibiótico não é cancerígeno e apresenta baixa toxicidade oral aguda, sendo classificado na categoria III pela EPA, o que indica que não é altamente tóxico. Além disso, o antibiótico mostrou-se potencial mutagênico nos testes de AMES, reforçando sua insegurança nesse aspecto. Diante desses resultados, é evidente a necessidade de mais estudos *in silico* sobre farmacocinética e toxicologia humana e ambiental, já que a enrofloxacina contribui para a contaminação ambiental e potencialmente para a saúde humana. A continuidade dessas pesquisas é essencial para uma compreensão mais aprofundada dos efeitos desse fármaco.



REFERÊNCIAS

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

Análise farmacocinética e toxicológica in silico para derivados do ácido cinâmico. In: MOTTA, L. F.; PINTO, C. H. S.; ARAUJO, L. F. Open Science Research X. Editora Científica Digital: 2023.

AQUINO, S. F. de; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. Engenharia Sanitária e Ambiental, v.18, n. 3, p. 187-204, 2013.

BARCELÓ, D. Emerging Pollutants in Water Analysis. TrAC Trends in Analytical Chemistry, v. 22, n. 10, p. 14-16, 2003.

BALCIOGLU, I. A.; ÖTKER, M. Pre-treatment of antibiotic formulation wastewater by O₃, O₃/H₂O₂, and O₃/UV processes. J. Environ. Eng. Sci., v.28, p.325-331, 2004.

BATISTA, B. C.; LIMA, A. R.; CRISOSTOMO, L. C. S.; MARINHO, M. M.; MARINHO, E. S. Softwares para o ensino de Química: ChemsSketch® um poderoso recurso didático. Redin-Revista Educacional Interdisciplinar, v. 5, n. 1, 2016.

BERGAN, T. Pharmacokinetics of fluorinated quinolones. In: ANDRIOLE, V.T. The Quinolones, New York, Academic Press, 1988, p. 119-154.

BERTOLDI, A. D.; DAL PIZZO, T. S., RAMOS, L. R.; MENGUE, S. S.; LUIZA, V. L.; TAVARES, N. U. L.; FARIAS, R. M.; OLIVEIRA, M. A.; ARRAIS, P. S. D. Perfil sociodemográfico dos usuários de medicamentos no Brasil: resultados da PNAUM 2014. Revista de saúde pública, v. 50, p. 5, 2016.

BILA, D. M. Degradação e remoção da atividade estrogênica do desregulador endócrino 17 β-estradiol pelo processo de ozonização. Rio de Janeiro, p. 281, 2005.

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.

BRASIL. Setor de medicamentos envia três propostas para a logística reversa. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/noticias/setor-de-medicamentos-envia-tres-propostas-para-a-logistica-reversa>. Acesso em: 29 ago. 2024.

CAIANA, R. R. A.; FREITAS, RUFINO, J. C. Avaliação das propriedades farmacocinéticas de um candidato a fármaco derivado da D-Glicose. Revista Saúde Pública, São Paulo, v. 58, 2016.

CASTRO, D. M. Modelagem molecular, estudo farmacocinético in silico humano e ambiental para o antibiótico cefquinoma, 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Instituto Federal do Norte de Minas Gerais, Montes Claros, 2023.

CAVALCANTE, L. F.; GOUVÊA, A. S.; MARQUES, J. V. Degeneração retiniana em gatos associada ao uso de enrofloxacin. Acta Veterinaria Brasilica, v. 3, n. 2, p. 62-68, 2009.

CHENG, F.; LI, W.; ZHOU, Y.; SHEN, J.; WU, Z.; LIU, G.; LEE, P. W.; TANG, Y. admetSAR: A Comprehensive Source and Free Tool for Assessment of Chemical ADMET Properties. Journal of Chemical Information and Modeling, v. 52, n. 11, p. 3099–3105, 2012.



COSTA, L. C. Análise e comparação da contaminação de alimentos de origem animal por antibióticos a nível europeu. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Portugal. 2014.

DE SOUZA, M. I. A.; LAGE, M. E.; PRADO, C. S. Resíduos de antibióticos em carne bovina. Centro Científico Conhecer, v. 9, n. 16, p. 1917, 2013.

FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. Aquatic toxicology. Aquatic Toxicology, v. 76, p. 122–159, 2006.

FILHO, A. R. B.; AMARAL, C. S. T.; TROVATTI, E. Tendências biotecnológicas para o mercado pet de cães. Revista Sociedade Científica, v.7, n.1, p.1904-1919, 2024.

FINK, L.; DROR, I.; BERKOWITZ, B. Enrofloxacin oxidative degradation facilities by metal oxide nanoparticles. Chemosphere, v. 86, p. 144-149, 2012.

FLORES, K. K. A.; MÓL, G. S. O uso do Software Educacional ACD/ChemSketch® como ferramenta dinâmica no Ensino de Química Orgânica. 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo, 2016.

FONSECA, E. G. M.; MOTTA, L.F. In silico pharmacokinetic and toxicological evaluation of Cephalonium antibiotic in human and environmental health. In silico pharmacokinetic and toxicological evaluation of Cephalonium antibiotic in human and environmental health. v. 1, 2023.

FRADE, V. M. F. Oxidação química de enrofloxacina pelo processo Fenton. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2013.

GIL, E. S.; MATHIAS, R. O. Classificação e riscos associados aos resíduos químicos Farmacêuticos. Revista Eletrônica de Farmácia, v.2, 2005.

GILBERT, J. K.; BOULTER, C. J.; ELMER, R. Positioning models in science education and in design and technology education. Kluwer Academic Publishers. 2000.

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

GÓRNIAC, S.L. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAC S.L.; BERNARDI, M.M. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária. 4ªed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 920, 2006.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. Química Nova, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUINEA, E.; BRILLAS, E.; CENTELLAS, F., CANIZARES, P.; RODRIGO, M. A., SÁEZ. Oxidation of enrofloxacin with conductive-diamond electrochemical oxidation, ozonation and Fenton oxidation - A comparison. Water Research, v. 43, p. 2131-2138, 2009.

HOMEM, V.; SANTOS, L. Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices A review. Journal of Environmental Management, v. 92, p. 2304-2347, 2011.

IKEHATA, K.; NAGHASHKAR, N. J.; EL-DIN, M. G. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation process: A review. Ozone: Science and Engineering, v. 28, p. 353-414, 2006.



KAUFFMANN, K.; GREMM, L.; BRENDT, J.; SCHIWY, A.; BLUHM, K.; HOLLERT, H.; BUCHS, J. Alternative type of Ames test allows for dynamics mutagenicity detection by online monitoring of respiration activity. *Science of The Total Environment*, 726, 2020.

KOHANSKI, M. A.; DWYER, D. J.; COLLINS, J. J. How Antibiotics Kill Bacteria: From Targets to Networks. *Nat. Rev. Microbiol.* v.8, p.423–435, 2010.

KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment - A review -Part I. *Chemosphere*, v. 75, p. 417-434, 2009.

KÜMMERER, K. Pharmaceuticals in the Environment. *Annual Review of Environment and Resources*, v.35, p. 57-75, 2010.

MACHADO, J. A. C.; OLIVEIRA, A. C.; ANTÔNIO, N. S.; CANESINI, R. R.; JESSÉ, R.; NEGRI, D.; PEREIRA, D. M. Quinolonas: Revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, Garça, 2009.

MARTINS, D. B.; ALVES, R. A. Infecção gastrointestinal causada por *Campylobacter* em felino: Relato de caso. *Pubvet*, v. 17, n. 05, p. e1385-e1385, 2023.

MELO, S. A. S.; TROVÓ, A. G.; BAUTIZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Química Nova*, v. 32 (1), p. 188-197, 2009.

MIRANDA, C. C. S.; SALAZAR, V. A. C.; BRITO, M. D. R. M. Avaliação in silico da atividade antifúngica de compostos sulfurados presentes na *Petiveria alliacea* L. *Revista de Casos e Consultoria*, 12 (1), 2021.

MIRZAEI, A.; CHEN, Z.; HAGHIGHAT, F.; YERUSHALMI, L. Removal of pharmaceuticals from water by homo/ heterogonous Fenton-type processes - A review. *Chemosphere*, v. 174, p. 665-688, 2017.

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, n. 9, p. 1094-1110, 2017.

MOSCHEM, J. C.; GONÇALVES, P. R. Toxicologia in silico como possibilidade para análise de impacto toxicológico: In silico toxicology as a possibility for toxicological impact analysis. *Health and Biosciences*, v. 3, n. 2, p. 42-63, 2022.

NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. *Química Nova*, v. 21 (1), 1998

OLIVEIRA, L. S. Levantamento dos princípios éticos aplicados na Engenharia Química. 2022.

OLIVEIRA, P. L. O crescimento do mercado pet: uma análise das razões pelas quais as pessoas vêm, cada vez mais, tendo pets e consumindo produtos relacionados a eles. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Administração) - Faculdade de Administração e Ciências Contábeis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

PENA, A.; CHMIELOVA, D.; LINO, C. M.; SOLICH, P. Determination of fluoroquinolone antibiotics in surface from Mondego River by high performance liquid chromatography using a monolithic column. *Journal Separation Science*, v. 30, p. 2924-2928, 2007.



PEREIRA, L. A.; JARDIM, I. C. S. F.; FOSTIER, A. H.; RATH, S. Ocorrência, comportamento e impactos ambientais provocados pela presença de antimicrobianos veterinários em solos. *Química Nova*, v. 35 (1), p. 159-169, 2012.

RODRIGUES, P. C. M.. Transparência e eficiência na gestão ambiental: impactos da transferência de dados do Cadastro Ambiental Rural entre órgãos federais com uma abordagem data-driven e data mining. MBA Executivo em Business Analytics, Instituto de Pós-Graduação - IPOG, Brasília, DF, 2024.

SIM, W. J.; LEE, J. W.; OH, J. E. Occurrence and fate of pharmaceuticals in wastewater treatment plants and rivers in Korea. *Environmental Pollution*, v. 158, n. 5, p. 1938-1947, 2010.

TAMBOSI, J. L. Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento. Florianópolis. p.141, 2008.

TEIXEIRA, D. A. Microbiologia básica. Teófilo Otoni: Faculdade Presidente Antônio Carlos de Teófilo Otoni, 2020.

VANCUTSEM, P. M., BABISH, J.G.; SCHWARK W.S. The fluorquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Vet.* 80:173-186, 1990.

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. *Science of the Total Environment*, v.429, p. 123-155, 2012.

WOLFSON, J.S.; HOOPER, D.C. The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity in vitro. *Agents Chemother.* 28:581-586, 1985.

YANG, H. In silico prediction of chemical toxicity for drug design using machine learning methods and structural alerts. *Front. Chem.*, v.6, p.30, 2018.

YUAN, F.; HU, CHUN.; HU, X.; WEI, D.; CHEN, Y.; Q, J. Photodegradation and toxicity changes of antibiotics in UV and UV/H₂O₂ process. *Journal of Hazardous Materials*, v. 185, p. 1256-1263, 2011.