



PREDIÇÃO DA TOXICIDADE DAS CEFALOSPORINAS

Marcela do Socorro Martins Ferreira¹; Anderson Albuquerque de Souza²; Camilla Eduarda Lima Rolim³; Walice Rans da Silva Padilha⁴; Maria Fâni Dolabela⁵

¹Discente Petiano Bolsista do Grupo PET Farmácia do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Pará (marcela.ferreira@ics.ufpa.br); ²Discente Petiano Bolsista do Grupo PET Farmácia do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Pará; ³Discente Petiano Bolsista do Grupo PET Farmácia do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Pará; ⁴Discente Petiano Bolsista do Grupo PET Farmácia do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Pará; ⁵Tutora do Grupo PET Farmácia, Docente do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Pará.

Ciências da Saúde; Grupo PET-Farmácia; Universidade Federal do Pará.

RESUMO

Os beta-lactâmicos são fármacos antimicrobianos que contêm um anel beta-lactâmico no seu núcleo estrutural, são bactericidas e possuem ação contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Esse grupo de antibióticos abrange as cefalosporinas, penicilinas, os carbapenêmicos e os monobactâmicos. Nesse sentido, esse trabalho consiste em um estudo *In silico* do grupo dos beta-lactâmicos, mais especificamente, da classe das cefalosporinas, da qual foram selecionadas quatro para a análise: a cefalotina (primeira geração), cefoxitina (segunda geração), cefotaxima (terceira geração) e cefepima (quarta geração), com o objetivo de analisar as suas propriedades tóxicas e mutagênicas. Como resultado, teve-se que os fármacos foram classificados como tóxicos, prejudiciais ou atóxicos, a depender da espécie utilizada. Em relação à mutagenicidade, todos tiveram resultado positivo em pelo menos uma das cepas bacterianas testadas. Desse modo, o presente estudo computacional pretende contribuir para o conhecimento científico, uma vez que as cefalosporinas representam uma das classes de antimicrobianos mais prescritos no mundo, apresentando grande importância clínica.

PALAVRAS-CHAVE: Beta-lactâmicos; Estudo *in silico*; Fármaco.

INTRODUÇÃO

Os antibióticos são substâncias químicas naturais ou sintéticas capazes de causar a morte ou impedir a multiplicação de bactérias. Ademais, eles são tidos como um dos maiores avanços terapêuticos que revolucionaram a história da medicina e podem ter ação bactericida, quando destroem diretamente as bactérias ou bacteriostática, quando inibem o desenvolvimento microbiano (BELLOSO, 2009; FONSECA, 1991; WALSH et al., 2003). Em adição, esses compostos apresentam várias classificações, como beta-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas,

carbapenêmicos, monobactâmicos), tetraciclinas, aminoglicosídeos, macrolídeos, entre outros (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Os beta-lactâmicos consistem em um grupo de antibióticos bactericidas de amplo espectro, com elevada eficácia clínica e baixa toxicidade. Além disso, apresentam o anel beta-lactâmico e possuem o mecanismo de ação voltado para a inibição da síntese da parede celular bacteriana (KATSUNG; TREVOR, 2017).

Outrossim, as cefalosporinas consistem em uma classe de beta-lactâmicos usadas no tratamento de infecções causadas por bactérias (gram-positivas e gram-negativas), sendo divididas por gerações, conforme a atividade antimicrobiana (RIVAS et al., 2002; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2006). Sendo assim, para ser o objeto de estudo desse trabalho, foi escolhido entre os subgrupos dos antibióticos beta-lactâmicos, as cefalosporinas cefalotina, cefoxitina, cefotaxima e cefepima, de primeira, segunda, terceira e quarta geração, respectivamente, para a realização de um estudo *In silico* a fim de avaliar os seus aspectos de toxicidade e mutagenicidade.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo *In silico*: um modelo de simulação computacional que usa modelos matemáticos para avaliar como uma molécula poderia se comportar em um determinado sistema, sendo que os modelos de espécimes usados, como o Medaka, são apenas projeções numéricas. Por esse motivo, estudos *In silico* não são submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

Para este estudo foram selecionados quatro fármacos, dentre os beta-lactâmicos, especificamente da classe das cefalosporinas, sendo eles: a cefalotina (de primeira geração), cefoxitina (de segunda geração), cefotaxima (de terceira geração) e cefepima (de quarta geração). Em adição, as análises foram desenvolvidas a partir de um estudo computacional, utilizando programas online como: ChemSketch versão 2.1, 2019 para o desenho das estruturas químicas isoladas e o PreADMET (versão 2.0, Copyright© 2005-2017), para consultar as predições toxicológicas. Para a predição da mutagenicidade utilizou-se o Teste Ames, sendo usadas várias estirpes da bactéria *Salmonella typhimurium* (TA100 e TA1535). A variável testada é a capacidade de o agente mutagênico provocar a reversão para o crescimento em meio isento de histidina (AMES et al., 1975).

Quanto à avaliação dos critérios de toxicidade em organismos marinhos, foram considerados os seguintes parâmetros: toxicidade em algas - tóxicos < 1 mg/L

e não tóxicos > 1 mg/L (COSTA et al., 2008); toxicidade em *Daphnia sp.* - tóxico < 0,22 µg/mL e não tóxico > 0,22 µg/mL (GUILHERMINO et al., 2000); toxicidade em peixes Medaka e Minnow - muito tóxico < 1 mg/L, tóxico entre 1-10 mg/L, prejudiciais entre 10-100 mg/L e não tóxico > 100 mg/L (ZUCKER, 1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar a capacidade dessas substâncias apresentarem toxicidade, os órgãos fiscalizadores recomendam o uso de mais de uma espécie e diferentes níveis tróficos nos testes. Por isso, são comumente utilizados algas (base da cadeia alimentar), crustáceos (consumidores primários de algas) e peixes, que são consumidores secundários (REBOUÇAS et al., 2013).

Tabela 1. Resultado dos valores de toxicidade dos fármacos

Espécimes	Cefalotina	Cefoxitina	Cefotaxima	Cefepima
Algae	+	+	+	+
<i>Daphnia magna</i>	-	-	-	-
Medaka	++	++	+	+/-
Minnow	++	++	+	+/-

Legenda: (+) tóxico; (++) muito tóxico; (+/-) prejudicial; (-) atóxico.

Fonte: Os autores.

Ao avaliar a toxicidade das algas, todos os fármacos foram avaliados como tóxicos (< 1 mg/L), as algas foram usadas para avaliar o grau de toxicidade aguda e mensurar apenas as mortes (ARENZON et al., 2013). Já o crustáceo *Daphnia sp.* foi utilizado como parâmetro para toxicidade aguda e subcrônica, e todas as gerações foram consideradas atóxicas (> 0,22 µg/mL) nesta predição.

Os peixes Medaka e Minnow servem como parâmetro de toxicidade aguda e crônica, respectivamente, além de permitir a observação de alterações na toxicidade que ocorrem em órgãos específicos desses animais (FERREIRA; NASCIMENTO BRANDÃO; DOLABELA, 2020). Desse modo, as duas primeiras gerações (cefalotina e cefoxitina) foram avaliadas como muito tóxicas (< 1 mg/L), a terceira geração (cefotaxima) como tóxica (1-10 mg/L) e a quarta geração (cefepima) sendo considerada apenas prejudicial (10-100 mg/L), demonstrando uma evolução nesse aspecto, pois a toxicidade das cefalosporinas foi diminuindo ao longo das gerações.

Tabela 2. Resultado da análise de mutagenicidade dos fármacos

Cepas	Cefalotina	Cefoxitina	Cefotaxima	Cefepima
TA100	-	-	+	+
TA1535	+	+	+	+

Legenda: (+) mutagênico; (-) não mutagênico.

Fonte: autores.

No presente ensaio, todas as estruturas preditas foram classificadas pelo programa como mutagênicas (Tabela 2), ou seja, todas as quatro gerações de cefalosporinas foram capazes de desencadear mutações nas sequências de bases do material genético em pelo menos uma das cepas bacterianas submetidas ao teste (TA100 e TA1535), a partir de mecanismos genotóxicos, que ocorrem a nível de genoma, onde tais danos são separados e repassados para as células sucessoras no momento do processo de replicação (AMES; GOLD, 1991). O teste de Ames se baseia na utilização de bactérias mutantes e busca averiguar a possibilidade de que essas mutações venham provocar proliferação e crescimento bacteriano mesmo sem histidina no meio, sendo um aminoácido essencial para esses microrganismos (TIMBRELL, 2009). Portanto, os resultados aqui evidenciados apontam positivamente para essa atividade. No entanto, é totalmente plausível a realização de bioensaios a fim de reforçar os achados do presente trabalho em relação aos fármacos testados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, observou-se que nos testes de toxicidade com Algae, peixe Medaka e Minnow, todos os fármacos analisados foram caracterizados como tóxicos ou prejudiciais, todavia na *Daphnia sp.* todos receberam a classificação atóxicos. Assim, foi possível analisar que ao passar das gerações houve uma redução da toxicidade das cefalosporinas. Quanto à mutagenicidade, todos os fármacos foram tidos como mutagênicos em pelo menos uma das cepas bacterianas (TA100 e TA1535), o que sugere a capacidade de gerar alterações no material genético nessas estirpes da bactéria *Salmonella typhimurium*.

REFERÊNCIAS

- AMES, B. N. et al. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, 1975, 31.6: 347-363.
- AMES, B. N.; GOLD, L. S. Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 250, n. 1-2, p. 3-16, 1991.
- ARENZON, A. et al. A determinação da toxicidade crônica para peixes baseada apenas na sobrevivência é suficiente. **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v. 8, n. 2, p. 65-68, 2013.

BELLOSO, W. H. Historia de los antibióticos. **Rev Hosp Ital B Aires Dic**, v. 29, p. 102-11, 2009.

COSTA, C. R. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, 2008, 31.7: 1820-1830.

FERREIRA, G. G.; NASCIMENTO BRANDÃO, D. L.; DOLABELA, M. F. Predição do comportamento farmacocinético, toxicidade e de atividades biológicas de alcaloides isolados de *Geissospermum laeve* (Vell.) Miers. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, p. e27991211056-e27991211056, 2020.

FONSECA, A. L. **Antibióticos na clínica diária**. Editora de Publicações Médicas, 1991.

GUILHERMINO, L. et al. Acute toxicity test with *Daphnia magna*: an alternative to mammals in the prescreening of chemical toxicity?. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 46, n. 3, p. 357-362, 2000.

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, p. 667-679, 2010.

KATSUNG, B. G.; TREVOR, A. J. **Farmacologia Básica e Clínica**. 13. ed. Porto Alegre: AMGH, 2017.

PREADMET. ADME Prediction. Disponível em: <<https://preadmet.bmdrc.kr/adme/>>. Acesso em: 25 jun. 2022.

REBOUÇAS, S. O. et al. Assessment of the genotoxic and mutagenic properties of *Himatanthus articulatus* bark extracts used as phytotherapeutic drug in the Amazon. **Journal of ethnopharmacology**, v. 147, n. 2, p. 474-480, 2013.

RIVAS, K. B. et al. Cefalosporinas: De la primera a la cuarta generación. **Revista de la Facultad de Medicina**, v. 25, n. 2, p. 142-153, 2002.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4°. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 469-471p.

TIMBRELL, J. A. Principles of biochemical toxicology. **CRC press**, 2009.

WALSH, C. et al. **Antibiotics: actions, origins, resistance**. American Society for Microbiology (ASM), 2003.

ZUCKER, E. Hazard Evaluation Division—Standard Evaluation Procedure. **Acute toxicity test for freshwater fish.(USEPA Publication 540/9–85-006)**, 1985.