

AVALIAÇÃO DO EFEITO AGUDO DOS FÁRMACOS IBUPROFENO E DICLOFENACO ATRAVÉS DE TESTE DE TOXICIDADE COM *DAPHNIA SIMILIS*.

Fábio Ramos Mendes, Bianca Stephanie de Souza Moreira, Fernando Sanzi Cortez, Aldo Ramos Santos, Augusto César

Faculdade de Farmácia da Universidade Santa Cecília (UNISANTA)

Recebido em: 20/08/09 Aceito em: 05/10/09 Publicado em: 04/12/10

RESUMO

Nas últimas décadas, o monitoramento de fármacos e produtos de higiene e cuidados pessoais (PHCP's) no meio ambiente vem ganhando grande interesse devido ao fato de muitas destas substâncias, denominadas compostos químicos emergentes e/ou micropoluentes, serem frequentemente encontrados em matrizes ambientais tais como, água superficial e sedimentos. Estudos comprovam a ocorrência destas substâncias em efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETE's), sendo esta uma das principais rotas para o ambiente aquático. A maioria dos fármacos apresentam características lipofílicas, baixa degradabilidade e tendem a se acumular no ambiente podendo causar efeitos adversos à biota. Os antiinflamatórios não esteroidais diclofenaco e ibuprofeno tem sido identificados e quantificados em amostras de efluentes de ETE's, bem como em águas superficiais em diferentes países. O presente estudo analisou o efeito agudo gerado pelos fármacos Diclofenaco e Ibuprofeno, através de testes de toxicidade com o microcrustáceo *Daphnia similis* (Cladóceras, Crustácea) visando classificá-los quanto à toxicidade na nomenclatura elaborada por Blaise⁽¹⁾ que está fundamentada na diretiva da União Européia (93/67/EEC - REACH) a qual exige um conhecimento mais profundo das características das substâncias químicas dentre elas os fármacos. Os valores médios da Concentração Efetiva que causa mortalidade e imobilidade em 50% dos organismos expostos (CE50₍₄₈₎) encontrados para Diclofenaco e Ibuprofeno foram 43 mg l⁻¹ e 97,09 mg l⁻¹ respectivamente. Baseado nos valores de CE50₍₄₈₎, estes fármacos foram classificados como "Prejudicial".

Palavras-chave. Toxicidade; Fármacos; Biota.

1. Introdução

Segundo Gigger⁽²⁾ são registradas 100.000 substâncias químicas diferentes na União Européia, dos quais 30.000 destes produtos são comercializados em quantidades maiores que 1 tonelada. Entre eles, estão os compostos farmacêuticos (antibióticos, hormônios, anestésicos, antilipêmicos, antidepressivos, antiinflamatório dentre outros), que são classificados como compostos químicos emergentes e/ou micropoluentes⁽³⁾. Atualmente o monitoramento de fármacos residuais no meio ambiente vem ganhando grande interesse, pois estes compostos têm sido continuamente lançados no ambiente aquático via efluentes de ETE's já que os processos de tratamento de esgoto empregados em grande escala na maioria dos países, não degradam em sua totalidade estes micropoluentes. Os fármacos em geral possuem características lipofílicas e frequentemente apresentam baixa biodegradabilidade. Estas propriedades intrínsecas geram um grande potencial para bioacumulação e persistência no ambiente⁽⁴⁾. No momento, um ponto crítico neste tema é saber se existem concentrações dessas substâncias em matrizes ambientais que sejam passíveis

de causar efeitos adversos nos organismos. A presença de contaminantes nos rios e corpos d'água tem sido apontada como a causa de anormalidades observadas nos organismos que habitam esses ambientes, além de causar alterações em suas estruturas populacionais⁽⁵⁾. Dados ecotoxicológicos têm sido levantados com o propósito de identificar fármacos que são potencialmente perigosos para o meio ambiente, porém, os dados disponíveis na literatura são ainda limitados⁽⁶⁾. Neste contexto, os objetivos do presente estudo foi analisar o efeito agudo dos fármacos Diclofenaco e Ibuprofeno empregando teste de toxicidade com *D. similis* (Cladóceras, Crustácea) e classificá-los quanto à toxicidade seguindo a nomenclatura elaborada por Blaise⁽¹⁾ fundamentada na diretiva da União Européia 93/67/EEC (REACH).

2. Materiais e Métodos

O procedimento laboratorial para o teste de toxicidade agudo seguiu a norma técnica NBR 12713/2004⁽⁷⁾ para *Daphnia similis*. Os princípios ativos

Diclofenaco e Ibuprofeno foram adquiridos na farmácia de Manipulação (Pharmacia Physalis – Santos – SP) e identificados através de laudos de origem. Para diluição do fármaco Ibuprofeno foi utilizado 10ml de Na₂CO₃ 0,2M, após a sua total diluição foi adicionado a água de cultivo (diluição) para o preparo das concentrações teste. Para a diluição do Diclofenaco não foi necessário solvente, pois o mesmo é de fácil diluição em água. Os testes foram realizados nos laboratórios de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília que

possui acreditação pelo INMETRO na norma ISO/IEC 17025.

3. Resultados

Os resultados expressos em CE₅₀₍₄₈₎ estão representados na tabela 1. Nas figuras 1 e 2 estão representadas a % de sobrevivência de *D.similis* para os dois fármacos testados.

A tabela 1 apresenta a CE₅₀₍₄₈₎ média para os fármacos testados com os respectivos desvios padrão.

Fármacos		
Experimento	Diclofenaco	Ibuprofeno
	média CE50 (mg/L) + DP	média da CE50 (mg/L) + DP
Teste - 1	50,22 + 9,01	90,33 + 6,14
Teste - 2	49,72 + 6,15	109,02 + 8,02
Teste - 3	38,07 + 8,43	91,94 + 6,03
Média - (n3)	46,00 + 7,86	97,09 + 6,73

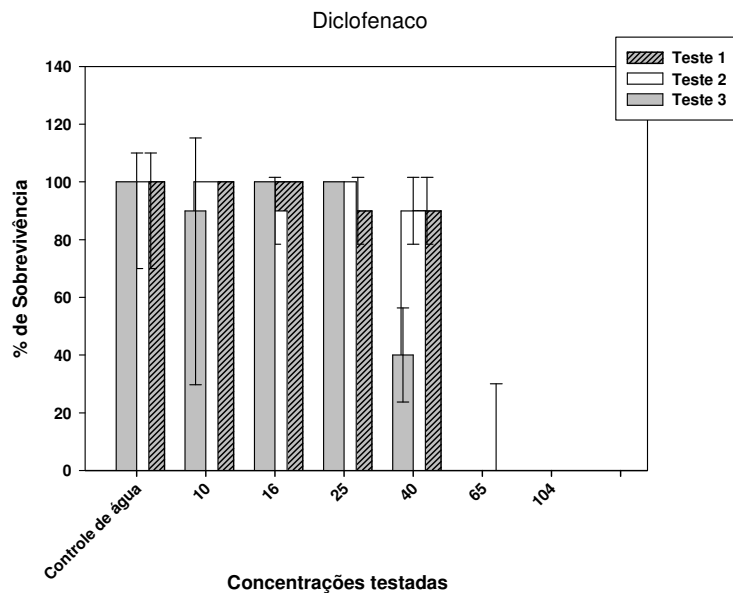
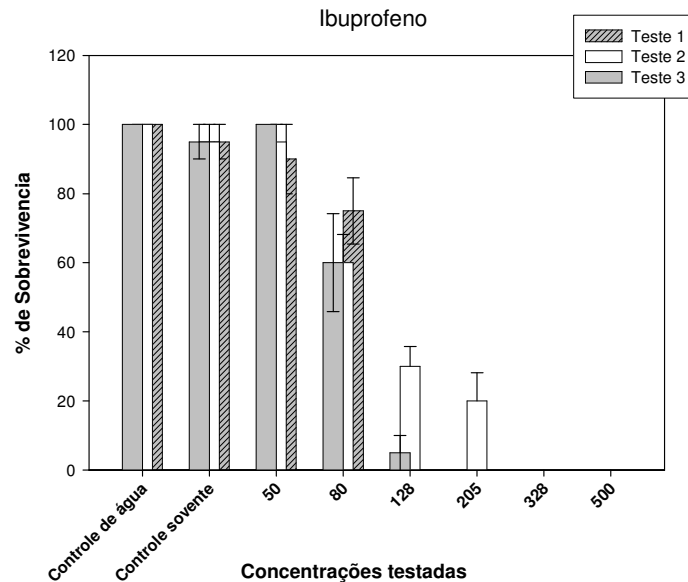


Fig. 1 - % de sobrevivência de *D.similis* para o fármaco Diclofenaco.

Fig. 2 - % de sobrevivência de *D. similis* para o fármaco Ibuprofeno

4. Discussão

Diferentes classes de fármacos, inclusive os anti-inflamatórios Diclofenaco e Ibuprofeno, tem sido detectados em efluentes de ETE's, água superficial, sedimento, água de abastecimento e águas subterrâneas de vários países (Fent(8), Moldovan(9), Ghiselli(10), Blaise(1), Kummerer(11), Stülten(12)). Este fato torna de fundamental importância o conhecimento dos efeitos biológicos que estes compostos, mesmo em baixas concentrações, podem causar à biota aquática. Nesse sentido diversos estudos têm sido realizados com o propósito de determinar as concentrações que causam efeitos aos organismos, através de testes de toxicidade em laboratório (Flaherty(13), Borgmann(14), Heckmann(15), Cleuvers(16), Ferrari(17), Nunes(18), Johnson(19)). Dados de toxicidade aguda dos fármacos Diclofenaco e Ibuprofeno foram levantados por Cleuvers(16) utilizando como organismo teste o microcrustáceo *Daphnia magna* e a microalga *Desmodesmus subspicatus*. Os valores de CE50(48) encontrados para o fármaco Diclofenaco foram 68 mg l⁻¹ e 72 mg l⁻¹, respectivamente. Já para o fármaco Ibuprofeno o valor de CE50(48) encontrado para *D. magna* foi de 108 mg l⁻¹ e de 315 mg l⁻¹ para *D. subspicatus*. O presente estudo, realizado com o microcrustáceo *D. similis*, apresentou menor valor de CE50(48) quando comparado ao estudo realizado por Cleuvers. Estes resultados demonstram uma maior sensibilidade da *D. similis* para os mesmos fármacos testados. No entanto, apesar das diferenças dos valores de CE50(48) para o fármaco Diclofenaco, os resultados de ambos os estudos classificam o composto como "Prejudicial" na nomenclatura elaborada por Blaise(1). Já para o fármaco Ibuprofeno, os resultados dos ensaios com *D. similis* enquadraram este composto como "Prejudicial" e, como "Não tóxico" com os resultados obtidos por Cleuvers. Estudos sobre os efeitos agudo e crônico com as mais variadas classes de fármacos e com organismos de diferentes níveis tróficos, devem ser realizados com o intuito de gerar um banco de dados que propicie o gerenciamento dos riscos poten-

ciais desta classe de contaminantes para vida aquática.

5. Conclusão

O presente estudo demonstrou que os fármacos Diclofenaco e Ibuprofeno são passíveis de causar efeitos adversos aos organismos aquáticos em concentrações da ordem de mg l⁻¹ e baseado nos resultados dos testes de toxicidade foram classificadas como "Prejudiciais" na nomenclatura elaborada por Blaise. De fato, as concentrações que vem sendo detectadas no ambiente estão na ordem de µg l⁻¹ a ng l⁻¹, isto não descarta a importância da continuidade de estudos que identifiquem e quantifiquem os fármacos no ambiente aquático e de estudos ecotoxicológicos para realização de avaliações de risco ambiental. O emprego de novas tecnologias que sejam tecnicamente e economicamente viáveis para total degradação destes compostos devem ser estudadas a fim de minimizar este problema.

6. Referência Bibliográfica

- BLAISE, C.; GAGNÉ, F.; QUINN, B. An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuate*, *Science of the total environment* 389; p 306-314, 2008.
- GIGER, W. Produits chimiques : Facteurs de risque pour l'environnement et la santé, *EAWAG news*. 53; p 3-5, 2002.
- OGA, S.; CAMARGO, M. DE A.; BATISTUZZO, J. A. DE O. Fundamentos da toxicologia - 3oed, São Paulo: Atheneu, p: 127, 133. 2008.
- CHRISTENSEN, F.M. Pharmaceuticals in the Environment - A Human Risk, *regulatory toxicology and pharmacology*; 28, p 212-221. 1998.

- BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Limnologia Fluvial: Um Estudo no Rio Mogi Guaçu.: RIMA, 2003.
- BILA, D. M. ; DEZOTTI, M. W. Fármacos no meio ambiente. Química nova. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, 21945-970 Rio de Janeiro – RJ – 2003.
- ABNT/CEET 00:001.044 - Comissão de Estudo Especial Temporária de Análises Ecotoxicológicas; NBR 12713 – Aquatic ecotoxicology - Acute toxicity - Test with *Daphnia* sp (Crustacea, Cladocera); Descriptors: *Daphnia similis*. *Daphnia magna*. Effluent. Monitoring.
- FENT, K; WESTON, A. A; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*. 76; p 122–159, 2006.
- MOLDOVAN, Z. Occurrences of pharmaceutical and personal care products as micropollutants in rivers from Romania. *Chemosphere* 64; p 1808–1817. 2006.
- GHISELLI, GISLAINE. Avaliação da qualidade das águas. Destinadas ao abastecimento público na região de Campinas. Ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP). 2006. monografia (tese de doutorado – área de química analítica). Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP; Campinas.
- KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere* 75. p 417–434. 2009.
- STÜLTEN, D., et al. Occurrence of didofenac and selected metabolites in sewage effluents. *Science of the total environment*. p 310 - 316. 2008.
- FLAHERTY, C. M.; DODSON, S. I. Effects of pharmaceuticals on *Daphnia* survival, growth, and reproduction. *Chemosphere* 61. p 200–207. 2005.
- BORGMANN, U., et al. Effect of a mixture of seven pharmaceuticals on *Hyalella azteca* over multiple generations. *Chemosphere* 66. p 1278–1283. 2006.
- HECKMANN, L. H, et al. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology Letters* 172. p 137–145. 2007.
- CLUVERS, M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59. p 309–315. 2004.
- FERRARI, B., et al. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55. p 359–370. 2003.
- NUNES, B; CARVALHO, F.; GUILHERMINO, L. Acute toxicity of widely used pharmaceuticals in aquatic species: *Gambusia holbrooki*, *Artemia parthenogenetica* and *Tetraselmis chuii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61. p 413–419. 2005.
- JOHNSON, D. J.; et al. Toxicity and hazard of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants fluoxetine, fluvoxamine, and sertraline to algae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67. p 128–139. 2007.