



## PREPARAÇÃO DE NOVOS METABÓLITOS DE LAMIVUDINA POR BIOCONVERSÃO COM FUNGOS FILAMENTOSOS

DIAS, Leonardo Eulálio da Silveira<sup>1</sup>; ANDRADE Carolina Horta <sup>2</sup>, PAZINI Francine<sup>3</sup>,  
DE OLIVEIRA, Valéria<sup>4</sup>

**Palavras-chave:** Lamivudina, metabólitos, bioconversão

### 1. INTRODUÇÃO

Apesar dos esforços consideráveis que têm sido feitos para o desenvolvimento de análogos de dideoxynucleosídeos e terapias envolvendo diferentes mecanismos de ação dos inibidores da transcriptase reversa, a elucidação do mecanismo de ação e principalmente do metabolismo, continuam incompletas. Reações de biotransformação ou bioconversão referem-se ao metabolismo de substâncias estranhas ou xenobióticos, realizadas por seres vivos. O metabolismo dos mamíferos ocorre no fígado e pode ser dividido em duas fases: Fase 1, que engloba reações de oxidação, redução e hidrólise; e Fase 2, que envolve reações de conjugação do fármaco com moléculas endógenas. Normalmente, as duas vias resultam na formação de metabólitos que são mais hidrossolúveis e desse modo serão mais facilmente excretados. Nas reações de Fase 1 o aumento da solubilidade em água geralmente ocorre pela introdução de grupamentos polares, tais como – OH, –COOH e –SO<sub>3</sub>H, ou colocando em evidência grupamentos da própria molécula que aumentam a solubilidade em água, incluindo aí reações como hidrólise. Já nas reações de Fase 2 a hidrossolubilidade do fármaco é aumentada através da adição de uma molécula endógena, formando um conjugado (BRINK et al,1998). Os metabólitos formados são geralmente mais polares e quimicamente distintos das substâncias que os originaram. Modificações moleculares funcionalizando a molécula da lamivudina (Figura 1), podem alterar as suas propriedades biológicas, ampliando a sua utilização. Entretanto, a funcionalização de moléculas complexas, como a lamivudina, por métodos químicos é difícil e, às vezes, impossível. Atualmente, as reações de bioconversão utilizando fungos filamentosos dotados de monoxigenases capazes de hidroxilar moléculas, como *Cunninghamella echinulata* ATCC 9244, *Beauveria bassiana* ATCC 7159, *Rhizopus arrhizus* ATCC 11145, *Mucor plumbeus* ATCC 4740 (Figura 1), *Mortierella isabelina* NRRL 1757 têm sido bastante exploradas (AZERAD, 1999) e os resultados obtidos são satisfatórios, constituindo um método interessante para esse tipo de reação.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1-Manutenção dos microrganismos.

Os fungos filamentosos foram repicados em ágar batata inclinado e incubados a 27°C em câmara germinativa BOD por 7 dias.

## 2.2-Metabolismo microbiano da lamivudina (*Screening*).

Cinco erlenmeyers de 250 mL contendo cada um 100 mL de meio líquido (Potato agar dextrose medium- PDSM) foram inoculados por uma suspensão de esporos de fungos filamentosos, provenientes da cultura de 7 dias em meio sólido ágar batata. Depois de 65 horas de crescimento em incubador rotativo à 27°C, 200 rpm, 50 mg de lamivudina solubilizada em 1 mL de etanol foram adicionados a cada erlenmeyer. Alíquotas foram coletadas e analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em intervalos de 24 horas, durante 96 horas para determinar a cinética da reação.

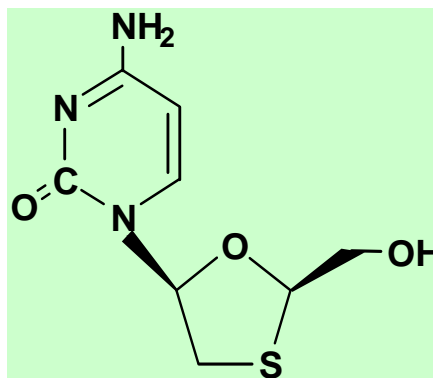
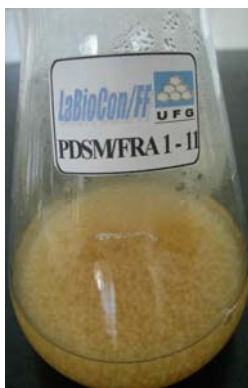


Figura 1. Fotografias de uma cepa de fungo filamentoso (*Mortierella isabellina* NRRL 1757) em meio líquido. Estrutura química da lamivudina.

## 2.3-Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Foi realizado um método isocrático para a CLAE, injetando-se 20µL de uma solução de lamivudina 0,2mg/mL em etanol, em cromatógrafo Gilson, bombas modelo 321, injetor Rheohyne, coluna Lichrospher 100 RP-18 Merck, detector UV-260- modelo 152, comprimento de onda 280 nm, fase móvel: metanol/água 20:80, fluxo de 0,5 mL/min. e tendo sido a duração da corrida de 15 minutos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma variedade de metabólitos foi observada (I-X), como mostra a tabela 1.

Tabela 1: Metabólitos produzidos por várias cepas de fungos filamentosos (*screening*), incubação de 24-96 horas em 27°C, detectados por CLAE em Lichrospher 100 RP-18 MERCK(250x4,6mmx0,5µm), MeOH/ Água 20:80 por 15 minutos; à 280 nm.

Microrganismos	Metabólitos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
<i>Beauveria bassiana</i> ATCC 7159	+++	-	-	++	-	-	-	-	++	-
<i>Cunninghamella echinulata</i> ATCC 9244	++	+	+	+	+	+	-	-	+++	-
<i>Mortierella isabellina</i> NRRL 1757	+++	-	+	-	-	-	+++	-	-	-
<i>Mucor plumbeus</i> ATCC 4740	++	-	-	-	+	-	-	+++	-	+
<i>Rhizopus arrhizus</i> ATCC 11145	++	-	-	+	+	-	+++	-	-	-

Legenda: -, ausente; +, traços (< 5% do total); ++, 5-30%; +++, metabólito majoritário (> 30%).

A Figura 2 apresenta um dos cromatogramas obtidos no sobrenadante de incubação com *Rhizopus arrhizus* (A), de uma maneira geral, no período de 24-96 horas, as concentrações dos metabólitos majoritários produzidos pelas cinco cepas de fungos filamentosos permanecem sem variações consideráveis. O tempo de retenção para a lamivudina foi de 5,46 minutos. Os metabólitos majoritários observados em praticamente todas as cepas, I e VIII, apresentaram um tempo de retenção de 4,05 e 10,06 minutos, respectivamente.

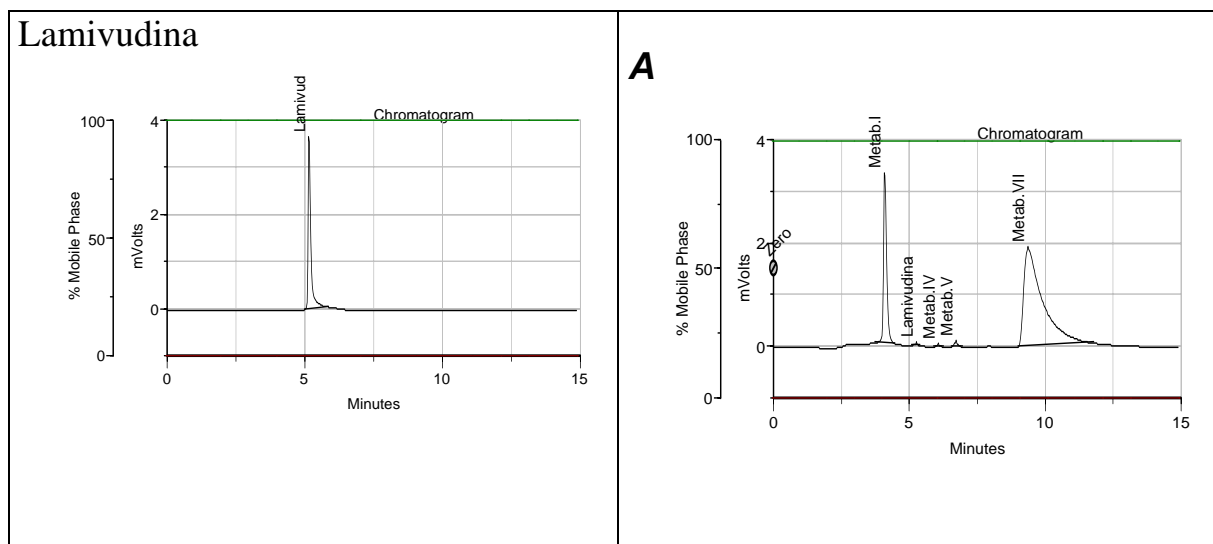


Figura 2: Perfil cromatográfico do sobrenadante de incubação de 48 horas com *Rhizopus arrhizus* (A) e da lamivudina em solução etanólica (1mg/mL).

#### 4. CONCLUSÃO

Foram identificadas várias cepas capazes de promover funcionalização da lamivudina. O método utilizado foi adequado ao monitoramento da formação dos metabólitos da lamivudina.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRINK, H. J. M., GORCOM, R. F. M., HONDEL, C. A. M. J. J. Cytochrome P-450 enzyme Systems in fungi. *Fungal Gen. Biol.* Vol. 23, p. 1-17, 1998.  
 AZERAD, R. Microbial models for drug metabolism. In *Adv. Biochem. Engin. / Biotechnol. (Biotransformations)*, ed. K Faber, T. Scheper, 169-218p. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 1999.

#### FONTE DE FINANCIAMENTO: CNPq/PIBIC

<sup>1</sup> Bolsista de Iniciação Científica. Faculdade de Farmácia –UFG

<sup>2</sup> Ex-aluna de graduação da Faculdade de Farmácia-UFG, Aluna de pós-graduação, Faculdade de Farmácia/USP

<sup>3</sup> Professora substituta de Química Farmacêutica Medicinal FF/UFG, Aluna de pós-graduação, Faculdade de Farmácia-UFRJ

<sup>4</sup> Orientadora, Professora de Química Farmacêutica FF/UFG, Laboratório de Bioconversão (LaBioCon) [valeria@farmacia.ufg.br](mailto:valeria@farmacia.ufg.br)