



PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DE ZIDOVUDINA E ESTAVUDINA POR BIOTRANSFORMAÇÕES MICROBIANAS

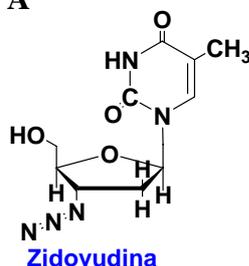
RIOS, Diogo Passos¹; CIRILO, Hérica Núbia. Cardoso²; PAZINI, Francine³; GOMES, Tatiana Caixeta Ferreira⁴; DE OLIVEIRA, Valéria⁵

Palavras-chave: zidovudina, estavudina, biotransformação.

1. INTRODUÇÃO

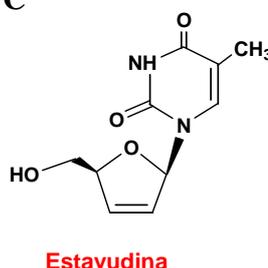
Em todo o mundo existe uma necessidade crescente de antivirais o que tem motivado a síntese de novos nucleosídeos para o uso em triagem terapêutica desta categoria de fármacos. O diversificado número de reações provenientes do metabolismo microbiano permite a produção de vários derivados dotados de maior atividade, com melhor biodisponibilidade ou reduzida toxicidade quando comparados a zidovudina e estavudina (Figura 1). Um aspecto essencial no estudo de compostos visando seu emprego terapêutico e posterior desenvolvimento de novos medicamentos refere-se à elucidação de seu metabolismo, incluindo biotransformação *in vivo*. No caso da zidovudina, três vias de metabolismo são descritas e a glicuronidação é a via principal, resultando na formação do derivado 3' azido (Eagling et al 1994). Microrganismos como fungos filamentosos (Figura 1), possuem um perfil enzimático similar ao da célula hepática dos mamíferos, eles podem constituir uma alternativa econômica de produção em escala preparativa de metabólitos animais. Os modelos microbianos (Smith & Rosazza, 1979; Azerad, 1999) apresentam um grande número de vantagens em relação ao uso de modelos animais, como: menor demanda por animais de laboratório, o processo é simples e requer menor tempo, os meios de cultura são de fácil preparação, baixo custo, facilitando o *screening* onde cepas com capacidade de produzir o tipo de metabólito desejado são selecionadas. É possível ainda o isolamento de metabólitos específicos e em maiores quantidades para estudos quanto a detalhes estruturais e atividade farmacológica e toxicológica. Este estudo objetivou promover funcionalização régio e estéreo-seletiva da zidovudina e estavudina utilizando bioconversão realizada por fungos filamentosos. A estratégia inicial adotada foi uma triagem para identificação das cepas de fungos filamentosos capazes de metabolizar estavudina e produzir *in vitro* prováveis metabólitos ou derivados da zidovudina e estavudina.

A



B

C



D



Figura 1. Estruturas químicas da zidovudina e estavudina (A e C) e aspecto microscópico dos fungos filamentosos, (B) *Cunninghamella echinulata* ATCC 9244 e (D) *Mortierella isabelina* NRRL 1757, empregados nas reações de biotransformação.

2. METODOLOGIA

2.1-Manutenção dos fungos:

Os fungos filamentosos *Beauveria bassiana* ATCC 7159, *Cunninghamella echinulata* ATCC 9244, *Mortierella isabelina* NRRL 1757, *Mucor plumbeus* ATCC 4740 e *Rhizopus arrhizus* ATCC 11145 foram repicados em tubos de ensaio contendo meio sólido ágar batata inclinado e incubados por 7 dias em câmara germinativa BOD para crescimento da cultura. Em seguida 2 mL de solução de glicerol a 25% foram adicionados em cada tubo e 0,5 mL da suspensão de esporos resultantes foi utilizada para inocular em Erlenmeyers de 250 mL contendo meio líquido (Potato dextrose soy medium/ PDSM).

2.2-Screening, monitoramento e extração dos produtos obtidos:

Os Erlenmeyers foram mantidos em incubador rotativo a 27°C, 200 rotações/min para o *screening*. Depois de 65 horas de crescimento, 50 mg de estavudina ou zidovudina dissolvida em 1 mL de álcool etílico P.A foi adicionada em cada Erlenmeyer, retornando estes à incubadora. Alíquotas foram coletadas após 24, 48, 72 e 96 horas, centrifugadas em microcentrífuga. O sobrenadante foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência/CLAE. As condições cromatográficas foram, fase móvel metanol/água 20:80, modo isocrático, coluna Lichrospher 100 RP 18 (250x4,6mmx0,5µ), detecção UV/265nm, fluxo 0,5 mL/min, corrida de 15 minutos, para determinação da cinética da reação de cada uma das cepas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários metabólitos foram observados nos sobrenadantes de incubação das várias cepas. A distribuição do tipo de metabólitos observada para cada uma das cepas foi diferente, sendo possível selecionar a melhor cepa para produção de cada um dos derivados. A figura 2 apresenta o cromatograma obtido pela análise do sobrenadante de incubação da *Cunninghamella echinulata* ATCC 9244, capaz de produzir os metabólitos I (1) e II (3) da zidovudina em 48 horas de incubação. Podemos observar que o metabólito I (1) é majoritário e que ainda resta pequena quantidade de zidovudina não metabolizada. O gráfico representativo da cinética de reação nos indica que a concentração dos dois metabólitos formados permanece estável durante todo o período de incubação.

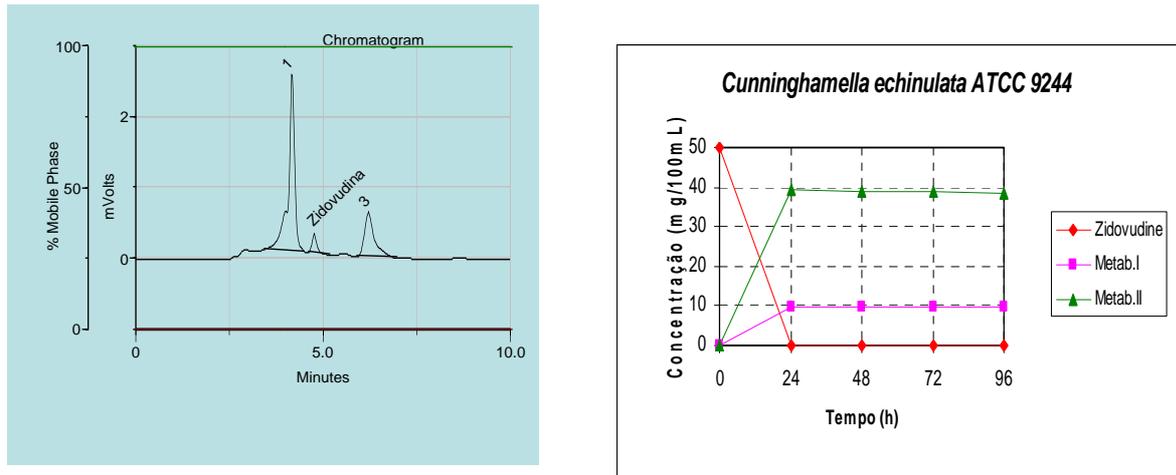


Figura 2. Cromatograma e gráfico representativo da cinética de biotransformação da zidovudina.

A figura 3 apresenta o cromatograma obtido pela análise do sobrenadante de incubação da *Mortierella isabelina* NRRL 1757, capaz de produzir os metabólitos I, V e VIII da estavudina em 24 horas de incubação. Podemos observar que o metabólito VIII. O gráfico representativo da cinética de reação nos indica que a concentração dos metabólitos formados permanece estável durante todo o período de incubação.

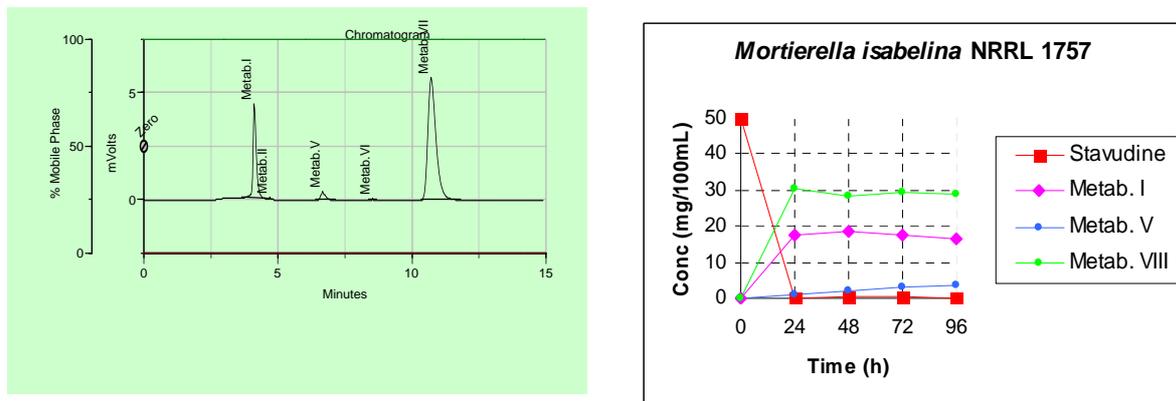


Figura 3. Cromatograma do sobrenadante de incubação e gráfico da cinética de biotransformação da estavudina pela *Mortierella isabelina* NRRL 1757.

4. CONCLUSÃO

Entre as cepas testadas *Cunninghamella echinulata* ATCC 9244 e *Mortierella isabelina* NRRL 1757 foram até o momento, as que demonstraram maior atividade na produção de derivados da zidovudina e estavudina respectivamente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

EAGLING, V. A.; et al. The Metabolism of Zidovudine by human liver microsomes in vitro: Formation of 3'- amino 3'- deoxythymidine. *Biochemical Pharmacology*. Vol. 48, pp. 267-276, 1994.

SMITH, R. V., ROSAZZA, J. P. Microbial models for drug metabolism, *Adv. Appl. Microbiol.*, 25, 169-208p. , 1979.

FONTE DE FINANCIAMENTO: CNPq/PIBIC

¹ Bolsista de Iniciação Científica. Faculdade de Farmácia –UFG, Laboratório de Bioconversão (LaBioCon).

² Farmacêutica da FF/UFG, Aluna de pós-graduação, Instituto de Química-UFG.

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

⁴ Aluna do Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia-UFG

⁵ Orientadora, Professora de Química Farmacêutica FF/UFG, Laboratório de Bioconversão (LaBioCon) valeria@farmacia.ufg.br