

## Biotransformação de fármacos por microrganismos do solo

### Drug biotransformation by soil microorganisms

#### RESUMO

A biotransformação de fármacos visa utilizar a capacidade enzimática de microrganismos presentes no ambiente para modificar moléculas químicas de interesse, de modo mais limpo, quando comparado com a síntese química tradicional. A modificação de fármacos através de reações enzimáticas naturais poderia gerar moléculas com maior potencial biológico e menor toxicidade, auxiliando na busca de novas moléculas ativas para diversas finalidades. Com o objetivo de efetuar biotransformações de drogas através do metabolismo de fungos coletados no meio ambiente, foram feitos dois procedimentos utilizando 3 drogas diferentes: prednisona, amirina e beta-cariofileno. A biotransformação das drogas foi avaliada em meio líquido para as duas primeiras e em meio sólido para a última. Na avaliação em meio líquido foram utilizados 2 fungos e no meio sólido foram utilizados 4 fungos. Os experimentos foram incubados por 7 e 14 dias a 27°C. Após a incubação, foi feita a extração com acetato de etila e submetidas a cromatografia em camada delgada, em comparação com o controle da droga e controle do fungo. A droga beta-cariofileno foi alterada por um dos fungos testados, gerando ao menos 2 moléculas diferentes.

**PALAVAS-CHAVE:** Biotransformação. Droga. Fungos.

**Fernanda Zantedeschi Rodrigues**  
[fernandarodrigues.1998@alunos.utfpr.edu.br](mailto:fernandarodrigues.1998@alunos.utfpr.edu.br)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

**Erika Izumi**  
[erikaizumi@utfpr.edu.br](mailto:erikaizumi@utfpr.edu.br)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

**Jociani Ascari**  
[jascari@utfpr.edu.br](mailto:jascari@utfpr.edu.br)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

**Francielli Balestrin de Souza**  
[fbalestrin@hotmail.com](mailto:fbalestrin@hotmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

**Bruna Finardi**  
[b\\_finardi@hotmail.com](mailto:b_finardi@hotmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

**Recebido:** 19 ago. 2019.

**Aprovado:** 01 out. 2019.

**Direito autorial:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



#### ABSTRACT

Biotransformation of drugs aims to use the enzymatic capacity of microorganisms present in the environment to modify chemical molecules of interest, in a cleaner way, when compared to traditional chemical synthesis. Modification of drugs through natural enzymatic reactions could generate molecules with higher biological potential and lower toxicity, helping in the search for new active molecules for various purposes. In order to effect drug biotransformation through the metabolism of fungi collected in the environment, two procedures were performed using 3 different drugs: prednisone, amirine and beta-caryophyllene. The biotransformation of the drugs was evaluated in liquid medium for the first two and in solid medium for the last. In the evaluation in liquid medium 2 isolated fungi were used and in the solid medium 4 isolated fungi were used. The experiments were incubated for 7 and 14 days at 27 ° C. After incubation, extraction with ethyl acetate was performed and subjected to thin layer chromatography compared to drug control and fungus control. The beta-caryophyllene drug was altered by one of the tested fungi, generating at least 2 different molecules.

**KEYWORDS:** Biotransformação. Droga. Fungos.

## INTRODUÇÃO Página | 2

Com o crescimento das áreas biotecnológicas, as transformações metabólicas para a produção de fármacos, ou seja, a biotransformação, tem sido muito eficiente na produção e desenvolvimento desses compostos, para várias áreas da economia, principalmente para o ramo farmacêutico.

Isso ocorre pelo motivo de que os produtos naturais, feitos de plantas, fungos, bactérias, algas, etc. são muito procurados pelos consumidores, e com isso, muitas pesquisas para a obtenção desses produtos estão sendo feitas. No entanto, a maioria destes são sintetizados em pequenas concentrações de origem natural (SANTOS, 2003). Tais substâncias são denominadas de metabólitos secundários.

Os fungos, por exemplo, existem nas formas de macro e microrganismos, sendo esta última a forma mais vantajosa em se trabalhar, existindo um maior controle sobre esses organismos e com os processos que serão executados. Eles também ocupam menor tempo e espaço, suas condições de cultivo podem ser atualizadas de modo que fique compatível com o interesse de aumentar ou modificar alguma técnica (BORGES, 2008).

Desse modo, tem-se como objetivo encontrar no meio ambiente fungos que biotransformem drogas, para que posteriormente seja possível identificar qual sua espécie e sua função biotransformante.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. FÁRMACOS UTILIZADOS

Os fármacos, cariofileno, amirina e prednisona, utilizados neste trabalho foram gentilmente cedidos para teste de biotransformação, sendo provenientes da UFPR e UEPG.

### 2. ISOLAMENTO DOS FUNGOS

Primeiro isolamento: No primeiro isolamento foi utilizado um meio de cultivo próprio para fungos contendo o corante rosa bengala. Uma amostra de

serapilheira foi coletada, diluída em água esterilizada e uma alíquota foi semeada por espalhamento na superfície do meio. A incubação foi em 27°C e as placas foram observadas para o surgimento de fungos de crescimento rápido, que foram repicados, isolados e denominados (R, V).

Segundo isolamento: No segundo isolamento a droga beta-cariofileno foi inserida junto no meio de cultivo czapeck. Após incubação por 72h, os fungos de maior crescimento foram isolados e denominados (CC1, CE2, SE1, CE3).

### 3. BIOTRANSFORMAÇÃO

Biotransformação em meio líquido: Foi preparado o meio czapeck e adicionada as drogas, amirina e prednisona a 300 µg/mL, em frascos erlenmeyers. Os fungos foram inoculados a 10<sup>5</sup> esporos/ml, e o experimento incubado por 7 dias a 27°C. Após a incubação, foi adicionado igual volume de acetato de etila e realizada a extração. O solvente foi evaporado e a amostra foi avaliada por cromatografia em camada delgada. Foram realizados experimentos com controle de fungo e controle de droga.

Biotransformação em meio sólido: Foi preparado o meio czapeck e adicionado ágar a 2%, bem como a droga beta-cariofileno a 300 µg/mL, em placas de Petri. Os fungos foram inoculados com alça de semeadura de modo a cobrir toda a superfície do meio. O experimento foi incubado por 14 dias a 27°C. Após a incubação, a placa estava como mostra a figura 1, desse modo foi adicionado igual volume de acetato de etila e realizada a extração. O solvente, acetato de etila, foi evaporado e a amostra foi avaliada por cromatografia em camada delgada, como mostra a figura 2. Foram realizados experimentos com controle de fungo e controle de droga.

### 4. AVALIAÇÃO QUÍMICA

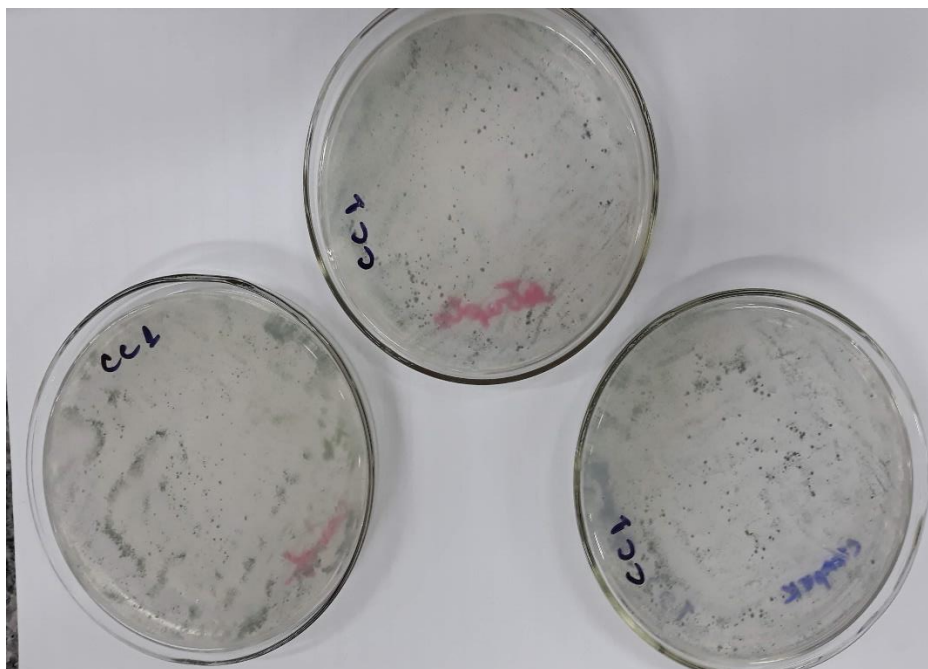
As amostras foram avaliadas quanto a possibilidade de biotransformação através da técnica de cromatografia em camada delgada. As amostras foram separadas com fase líquida de clorofórmio:acetato de etila, na proporção 4:1, e reveladas em anisaldeído sulfúrico. As amostras foram comparadas quanto ao controle de droga e do fungo. Manchas presentes somente na amostra

biotransformada, como mostra a figura 2, que não são correlacionadas a manchas de metabólitos do fungo, foram consideradas possíveis moléculas alteradas da droga testada.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As figuras mostram alguns procedimentos e resultados que foram obtidos durante a pesquisa:

Figura 1 – Fungo CC1 ao término do experimento de 14 dias.



Fonte: Autoria própria (2019)

A figura 1 ilustra o experimento de biotransformação em meio sólido, realizado em placa de petri, o que apresentou melhor resultado na triagem inicial de possíveis fungos biotransformantes. Essa técnica em meio sólido se mostrou melhor do que o primeiro teste em meio líquido devido ao menor gasto de droga para o teste, e também favoreceu um melhor crescimento do fungo por todo o substrato, permitindo um melhor contato com a droga presente no meio gelificado. A utilização de solvente na extração também foi menor nesta técnica realizada em meio sólido.

Figura 2 – Cromatografia em camada delgada da biotransformação de beta-cariofileno pelo fungo CC1.



Fonte: Autoria própria (2019)

A cromatografia em camada delgada, visualizada na figura 2, apresenta 2 manchas da droga biotransformada (coluna 15) quando comparada ao controle do fungo (coluna 14) e da droga pura (coluna C). Nota-se maior polaridade das moléculas alteradas em comparação ao beta-cariofileno. A visualização das moléculas biotransformantes é bem nítida, frente aos metabólitos do fungo visualizados pelas outras manchas.

A identificação do fungo biotransformante, bem como das moléculas obtidas, será realizada em etapa posterior do projeto.

## CONCLUSÃO

A biotransformação em meio sólido se mostrou mais eficaz, do modo testado, para realizar a triagem inicial de microrganismos biotransformantes, sendo necessária uma menor quantidade de droga teste e menor volume de solvente na extração.

Posteriormente, será determinado a taxonomia dos microrganismos utilizados, pois quando esses são isolados do ambiente ela só pode ser determinada através de sequenciamento de regiões conservadas, o que não foi possível fazer dentro da vigência de tal iniciação científica.

### AGRADECIMENTOS

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná por proporcionar a realização deste trabalho. Aos laboratórios parceiros da UFPR e UEPG por cederem as drogas para os testes.

### REFERÊNCIAS

SANTOS, Regina Maria Geris Dos Santos. **METABOLISMO SECUNDÁRIO DOS FUNGOS *Penicillium sp* E *Fusarium moniliforme* ISOLADOS COMO ENDOFÍTICOS DE *Melia azedarach* (MELIACEAE)**. Orientador: Professor Doutor Edson Rodrigues Filho. 2003. 453 p. Tese (Pós-Graduação em Química Orgânica) - FAPESP, São Carlos-SP, 2003.

BORGES, Warley Souza. **Estudos de fungos endofíticos associados a plantas da família Astaraceae como fontes de metabólitos secundários e em processos de biotransformação**, Ribeirão Preto, São Paulo, 2008.

ASCARI, Jociani. **Biotransformações: obtenção de moléculas bioativas**. 2013.