

Laila Oliveira de Souza, Rosana Fogaça, Renata Limberger (orientadora)

Laboratório de Toxicologia, Faculdade de Farmácia, UFRGS

## INTRODUÇÃO

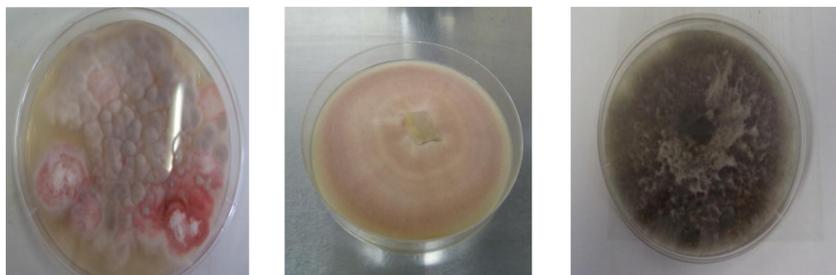
O uso indiscriminado de inibidores de apetite e compostos emagrecedores representa um grande risco à população, sobretudo pela falta de estudos científicos que comprovem sua segurança e eficácia, como o caso dos estimulantes tipo anfetamínicos (ETA's) como anfepramona, femproporex, sibutramina, efedrina e sinefrina. (CARLINI, E.A. et al. 2002/2006). O uso de modelos, especialmente com utilização de fungos, para o estudo e obtenção de produtos do metabolismo humano tem se mostrado uma ferramenta muito promissora. (SAXENA, S. 2009). Cada vez mais o emprego desses modelos vem se mostrando um instrumento complementar no estudo da farmacocinética de muitas drogas. (CLARK, A.M. e HUFFORD C.D. 1991).

## OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo realizar um screening com microrganismos com potencial biocatalítico como *Mortierella isabellina*, *Mortierella ramaniana*, *Macrophomina phaseollina* frente aos ETA's com o intuito de realizar reações de biotransformação semelhantes àquelas que ocorrem no metabolismo humano e obter produtos de biotransformação para posterior avaliação de toxicidade e toxicinética.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado o cultivo dos fungos filamentosos *Mortierella isabellina* CCT 3498, *Mortierella ramaniana* CCT 4428 e *Macrophomina phaseollina* MMBF 04-01 em ágar batata pH 6,8 em placas de Petri

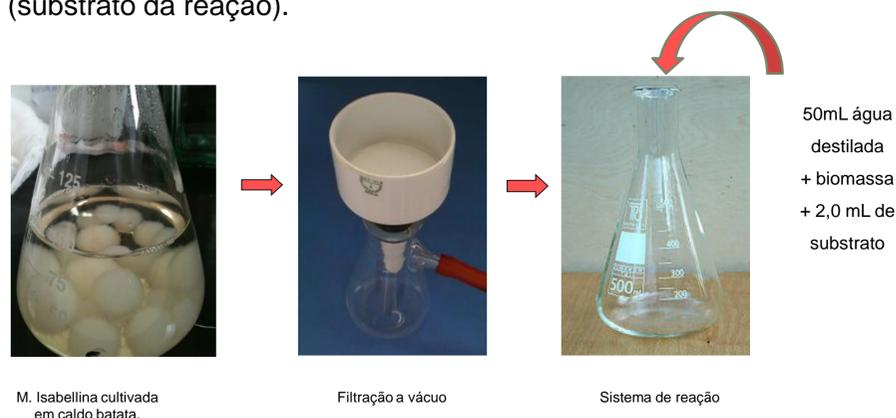


*M. isabellina*

*M. ramaniana*

*M. phaseollina*

Somente o fungo *M. isabellina* foi cultivado em caldo PBD e mantido sob agitação constante de 150 rpm a 28°C durante 60 horas para a obtenção de biomassa; as demais cepas foram armazenadas em ultrafreezer para posteriores reativação. A biomassa obtida foi adicionada a um erlenmeyer acrescido de 50 mL de água destilada e suplementada com 2 mL de solução de anfepramona 10 mg/mL (substrato da reação).



*M. isabellina* cultivada em caldo batata.

Filtração a vácuo

Sistema de reação

O sistema de reação foi mantido sob agitação constante e o acompanhamento da reação foi realizado mediante retiradas de alíquotas periódicas (t = 0h; 24h; 48h), seguida de extração com acetato de etila e análise por Cromatografia Gasosa acoplada à detector por ionização de chama (CG/DIC).

## Referências

- CARLINI, E.A. et al. 2002. I Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 107 maiores cidades do país – 2001. São Paulo : CEBRID/UNIFESP. 380 p.; CARLINI, E.A. et al. 2006. II Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 108 maiores cidades do país – 2005. São Paulo: CEBRID/UNIFESP, 2006. 468 p
- SAXENA, S. 2009. Current Opinion in Drug Discovery & Development, v.12, n.2, p.305-312.
- CLARK, A.M. e HUFFORD C.D. 1991. Med. Res. Rev. v. 11, p.473-501

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

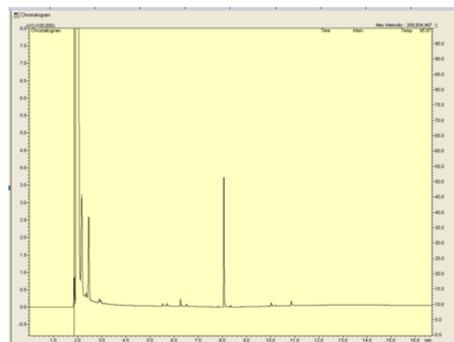


Fig.1 Cromatograma referente à extração realizada logo após a suplementação com solução de anfepramona, representando t = 0. Área do pico: 893294,1; Tr = 8,063

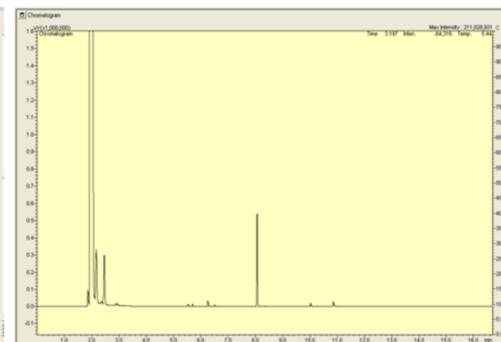


Fig. 2. Cromatograma referente à extração realizada 24h após a suplementação com solução de anfepramona. Área do pico: 864810,1; Tr = 8,062

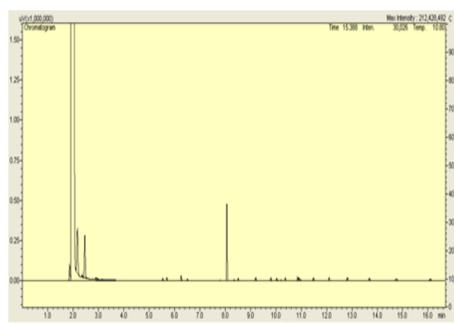


Fig.3 Cromatograma referente à extração realizada 48h após a suplementação com solução de anfepramona. Área do pico: 772459,5; Tr = 8,062

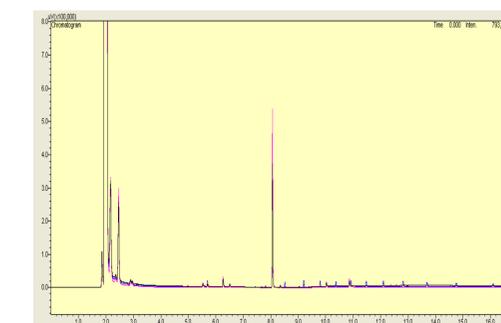


Fig. 4 Sobreposição dos cromatogramas t = 0; 24h; 48h

Observando-se os cromatogramas das primeiras 24h de reação (fig. 1 e 2) vê-se que não houve formação de produtos de biotransformação neste período inicial, uma vez que a diferença entre as áreas do pico do padrão de anfepramona foi pouco significativa. No entanto quando compara-se esses resultados com o cromatograma de 48h de reação, vê-se que houve um consumo do substrato, indicado pela diminuição da área do pico (fig. 3 e 4). Contudo, não houve identificação dos possíveis produtos de biotransformação gerados pela técnica empregada

## CONCLUSÃO

A partir de reações de biotransformação viu-se que serão necessários mais estudos e análises a respeito do potencial catalítico do fungo *M. isabellina* para gerar produtos de biotransformação utilizando anfepramona como substrato, como a análise por Cromatografia Gasosa ou líquida acoplada à detector de massas para viabilizar a continuidade deste trabalho.

Ainda assim, pretende-se investigar outras espécies de microrganismos como o fungo filamentos *Mortierella ramaniana*, *Macrophomina phaseollina* e *Cunninghamella echinulata*, devido ao seu conhecido potencial biocatalítico que essas espécies apresentam pela presença de enzimas do citocromo P450, que possuem sistema análogo aqueles presentes em mamíferos e em enzimas de fase II do metabolismo de drogas.