

# Desenvolvimento e validação de um método cromatográfico para o monitoramento da atividade da enzima SmMTAP

Miguel F. S. de Abreu<sup>1</sup> (IC), Renato Lessa<sup>1</sup> (PG), Marcela C. de Moraes<sup>1</sup> (PQ)

\* mcmoraes@id.uff.br

<sup>1</sup>Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense.

Palavras Chave: esquistossomose, CLAE, enzima, método analítico, adenina.

## Introdução

A esquistossomose é uma doença parasitária negligenciada e com alto índice de reincidência, comum em áreas de baixo desenvolvimento. Os fármacos atualmente utilizados em seu tratamento causam efeitos colaterais severos, o que ressalta a importância da busca por novos tratamentos. O *Schistosoma mansoni*, parasita causador da esquistossomose, depende integralmente da via de salvação para o suprimento de bases púricas. Dessa forma, a 5'-deoxi-5'-metiltioadenosina fosforilase (SmMTAP), enzima chave desta via, é considerada um importante alvo biológico para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da esquistossomose.<sup>1</sup>

O avanço tecnológico na área de síntese orgânica e a investigação de produtos naturais como fonte de bioativos têm resultado em um imenso espaço químico que demanda técnicas de triagem mais eficientes e confiáveis.<sup>2</sup> Dessa forma, este trabalho relata o desenvolvimento e validação de um método analítico para a quantificação de adenina, produto da reação catalisada pela SmMTAP, por CLAE-DAD, como primeira etapa do desenvolvimento de um novo método de triagem.

## Resultados e Discussão

As condições cromatográficas que fornecem a melhor separação de adenosina (substrato da reação catalisada pela SmMTAP) e adenina (produto) foram investigadas. A condição selecionada envolve o uso de NH<sub>4</sub>OAc 50 mmol l<sup>-1</sup> pH 6,0/ACN (95:5) como fase móvel, a uma vazão de 0,8 mL min<sup>-1</sup>; coluna: C-18 (150 × 4,6 mm d.i., partículas de 3 µm, Sigma Aldrich), e forneceu o cromatograma representado na figura 1.

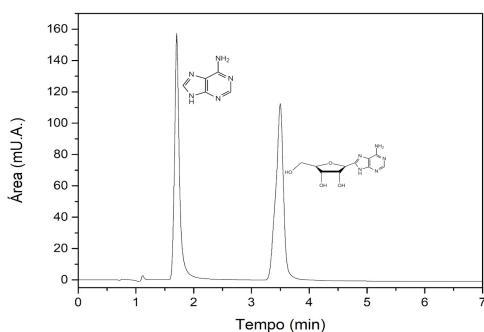


Figura 1: Cromatograma da separação de adenina e adenosina 260nm.

O método cromatográfico foi validado avaliando-se as figuras de mérito: linearidade, precisão, exatidão, seletividade, limite de quantificação e detecção, de acordo com os parâmetros preconizados pela ANVISA<sup>3</sup>. A figura 2 apresenta a curva analítica obtida no estudo da linearidade, onde foram injetadas soluções padrão de adenina nas concentrações 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100 µmol/L.

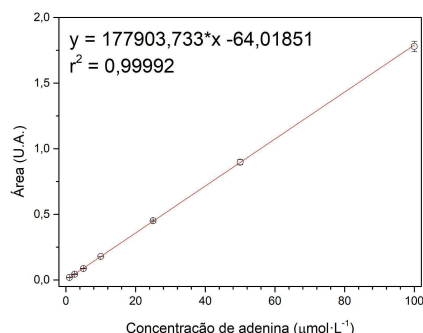


Figura 2: curva analítica construída

Os valores de precisão (0,99-14,4%) e exatidão (92,3-119%) foram obtidos a partir da análise das amostras de controle de qualidade do método (1,5; 40; 90 µmol/L). O limite de quantificação estabelecido para o método foi 0,7 µmol/L, enquanto o limite de detecção é de 0,2 µmol/L.

Os resultados obtidos demonstram que o método desenvolvido apresenta linearidade, seletividade, precisão e exatidão, e, portanto, pode ser utilizado para monitorar a atividade da enzima SmMTAP através da quantificação direta do produto formado.

## Conclusões

Foi possível a desenvolver e validar um método cromatográfico para a quantificação de adenina que será posteriormente utilizado para monitorar a atividade da enzima SmMTAP immobilizada em diferentes suportes sólidos.

## Agradecimentos

CNPq, FAPERJ, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

[1] SENFT, A. W. et al. Inter. Jnl for Parasitology, **1972**, *2*, 2, 249-60.

[2] MACARRÓN, E. HERTZBERG, R. P. Mol Biotechnol, **2011**, *47*, 270-285.

[3] ANVISA. RDC N° 166, DE 24 DE JULHO DE 2017.

