

Otimização das variáveis de um método de cromatografia micelar eletrocínética capilar para a análise de nucleosídeos

Adriana Zardini Buzatto¹(IC), Amanda Araújo Leitão¹(IC), Janaina Correa Pierozzi¹(IC), Jaime Amaya Farfan²(PQ), Ana Valéria Colnaghi Simionato¹(PQ)*

*avsimionato@iqm.unicamp.br

¹Departamento de Química Analítica - Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas, C.P. 6154, CEP: 13083-970

²Departamento de Alimentos e Nutrição – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, C.P. 6121, CEP: 13083-970

Palavras Chave: eletroforese capilar, nucleosídeos modificados, biomarcadores tumorais.

Introdução

Os nucleosídeos são metabólitos encontrados livremente em fluidos biológicos. Podem tanto conter apenas uma unidade de pentose ligada a uma base nitrogenada, quanto uma modificação (metilação, desoxigenação, entre outras).¹ O aumento da concentração de nucleosídeos modificados nos fluidos biológicos é indicativo de quadros de neoplasia (câncer), sendo considerados biomarcadores tumorais.² A eletroforese capilar (CE) é um método de separação bastante aplicado na análise de amostras biológicas, devido às características de versatilidade (diferentes modalidades de separação podem ser realizadas com o mesmo capilar), consumo de pouca quantidade de eletrólito (BGE) e amostra, alta velocidade de análise e alta eficiência. Neste trabalho foi desenvolvido um método de análise por CE, na modalidade micelar, a ser aplicado em futuras amostras reais de soro de pacientes com câncer. Para isso, vários parâmetros eletroforéticos foram otimizados com o uso de padrões analíticos a fim de obter as melhores condições de análise destes metabólitos.

Resultados e Discussão

Todas as análises foram realizadas em um equipamento HP3DCE da Agilent. Foram utilizados cinco padrões de nucleosídeos em solução aquosa na concentração de 0,50 mmol L⁻¹, sendo: citidina, guanosina, timidina, adenosina e deoxiadenosina. Foram otimizados os seguintes parâmetros eletroforéticos: acidez e concentração do BGE, tensão aplicada, tempo de injeção e concentração de surfactante. Acetona foi usada como marcador de fluxo eletrosmótico. Os pHs de BGE avaliados variaram de 6 a 10; a concentração do BGE foi avaliada na faixa de 20 a 100 mmol L⁻¹; a tensão aplicada variou de 10 a 30 kV; e a concentração de surfactante (dodecil sulfato de sódio – SDS) foi testada na faixa de 10 a 100 mmol L⁻¹. As melhores condições foram determinadas pelos gráficos de

mobilidade eletroforética em função da variação do parâmetro testado (e.g. concentração do BGE, acidez do BGE, concentração de surfactante) ou pelo tempo de análise (variação da tensão aplicada). A Figura 1 mostra o eletroferograma obtido com as melhores condições de análise, sendo: BGE: 20 mmol L⁻¹ borato, pH 9,2, 20 mmol L⁻¹ SDS; V: 25 kV; t_{inj}: 10s (50mBar); L_{total}: 60 cm; L_{efetivo}: 53 cm; i.d.: 50 µm. Observa-se que além do baixo consumo de amostra e BGE, altíssimas eficiências foram obtidas (de 8,03.10⁴ para 2-deoxiadenosina à 6,02.10⁵ para guanosina) em um tempo de análise menor que 6 min.

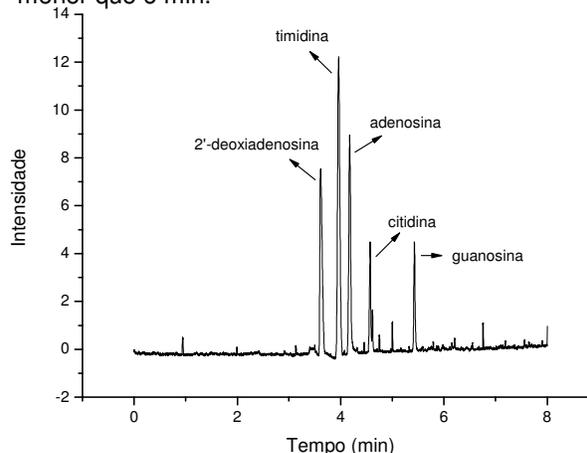


Figura 1. Eletroferograma ilustrando a separação dos padrões de nucleosídeos nas melhores condições obtidas.

Conclusões

As condições obtidas resultaram em um método adequado para a aplicação em futuras análises de fluidos biológicos, após validação do método, como soro de pacientes com câncer.

Agradecimentos

À FAPESP e ao CNPq.

¹ Bjork, G.R.; Ericson, J.U.; Gustafsson, C.E.D.; Hagervall, T.G.; Jonsson, Y.H.; Wikstrom, P.M. *J. Ann. Rev. Biochem.* **1987**, *56*, 263.

² Ma, Y.; Liu, G.; Du, M.; Stayton, I. *Electrophoresis* **2004**, *25*, 1473.