



MICROANÁLISE MEDIADA POR ELETROFORESE CAPILAR (EMMA) COMO MÉTODO ALTERNATIVO PARA AVALIAÇÃO DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

Siebert D. A.^{1*}; Alberton M. D.²; Micke G. A.¹

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, SC, Brasil.

²Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Regional de Blumenau, SC, Brasil.

*siebertbnu@gmail.com

Introdução: Uma das estratégias que podem ser adotadas para o tratamento de doenças é a inibição de enzimas que possuem papel chave no processo fisiopatológico. Exemplos disso são as enzimas acetilcolinesterase (AChE), relacionado à doença de Alzheimer, e α -glicosidase (α -Gli), relacionado ao *Diabetes mellitus* (Reitz et al. 2014, Biochem Pharmacol; Galtier 2010, Diabetes Metab). Uma tendência recente na área de ensaios enzimáticos é a utilização da eletroforese capilar (CE), cujo método chamado de microanálise mediada por eletroforese capilar (EMMA) é de particular interesse, tendo sido utilizado para ensaios de atividade enzimática, estudos cinéticos e de inibição (Fan et al. 2010, Pharmaceut Biomed). O presente estudo buscou a execução e adaptação dos métodos descritos por Martín-Biosca et al. (2009, J Sep Sci) e por Guo et al. (2010, J Pharmaceut Biomed) como ferramenta de estudo para a avaliação da inibição da AChE e α -Gli, respectivamente. **Métodos:** O experimento foi realizado em equipamento Agilent modelo 7100 com DAD e capilares de sílica fundida/poliimida (50 μ m x 58,5 cm), em 230 nm para AChE; e 270 e 406 nm para α -Gli. O BGE e o tampão utilizados foram 30 mM de H_3BO_3 e 30 mM de NaH_2PO_4 (pH 8,0) no caso da AChE; e $Na_2B_4O_7$ 20 mM (pH 9,2) como BGE e fosfato 40 mM (pH 6,8) como tampão de diluição no ensaio de α -Gli. Uma solução de AChE (10 U.mL⁻¹) ou α -Gli (5 U.mL⁻¹) e de substrato (acetilticolina, 2 mM, ou *p*-nitrofenil α -D-glicopiranosídeo, 0,2 mM) com ou sem inibidor/amostra, foram introduzidos no capilar em modo sanduíche, ou seja, solução de enzima (50 mBar, 5 s), substrato (50 mBar, 5 s) e enzima (50 mBar, 5 s) e deixado em repouso por 2 minutos (cassete à 37 °C) para incubação. Após, uma tensão de 30 kV foi aplicada. A % de inibição foi calculada pela fórmula: % inibição = 100 - (t/cn x 100); onde t é a área do pico do produto na presença de inibidor/amostra e "cn" a área do pico correspondente ao produto sem presença de inibidor. **Resultados:** Com esses parâmetros, foi possível verificar que o pico referente ao produto diminui em área quando neostigmina e acarbose são adicionados ao ensaio, e uma IC₅₀ de 14,1 μ M e 0,17 mM, respectivamente, foram obtidas. **Conclusão:** O método tem potencial para a avaliação da inibição da AChE ou α -Gli por amostras promissoras, com por exemplo extratos vegetais ou seus compostos isolados. Experimentos estão em andamento no sentido de melhor otimizar o método na presença de inibidores e amostras de produtos naturais.

Apoio financeiro/Agradecimentos: CNPq, UFSC e FURB.