

# ESTUDOS INICIAIS DA MELATONINA EM PLASMA DE CAMUNDONGOS POR ELETROFORESE CAPILAR (CE) COM DETECÇÃO UV-VIS



Laboratório de Análises de Biomoléculas Tiselius

1. Instituto de Química - Departamento de Química Analítica - Laboratório de Análise de Biomoléculas Tiselius

2. Instituto de Biologia - Departamento de Biologia Estrutural e Funcional - Laboratório do Pâncreas Endócrino e Metabolismo

giovancarneiro.silva@gmail.com



**Palavras-chave: Melatonina - Eletroforese Capilar - Camundongos**

## Introdução:

A melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) é um composto presente em todos os vertebrados cuja secreção ocorre majoritariamente pela glândula pineal sob influência do ritmo circadiano. Apesar de sua atuação no organismo ser pouco conhecida, acredita-se que possua um alto potencial fisiológico, uma vez que sua secreção está envolvida, de forma secundária, a outros sistemas no organismo.<sup>1</sup> Este projeto tem como objetivo o desenvolvimento de um método analítico para quantificação de melatonina por CE em plasma de cobaias (ratos ou camundongos), almejando encontrar uma relação entre a concentração do analito e a presença de doenças *in vivo*. A técnica proposta para os estudos baseia-se na migração diferencial de compostos iônicos ou ionizáveis em um meio condutor sob aplicação de um campo elétrico, tendo como principais características a alta versatilidade e eficiência de separação.

## Metodologia Experimental:

Análise em equipamento CE7100 Agilent com detecção UV-Vis (arranjo de diodos);

Capilar de sílica fundida Agilent (75µm de diâmetro interno, 72cm de comprimento total e 64 cm de comprimento efetivo);

Solução estoque de padrão de melatonina na concentração 1 mg/mL em 10% de metanol (v/v). Para as análises, utilizou-se concentração de 10 µg/mL.

Condições Iniciais: <sup>2</sup> BGE (background electrolyte) borato 20mmol/L pH = 9,5, 20kV, 20°C, $t_{inj} = 10$ s (25 mbar)	Planejamento Fatorial: Concentração(10-30mmolL <sup>-1</sup> ) e pH (8,2-10,2) do BGE	Curva de Ohm : Tensão 2,5 - 30kV	Otimização da Temperatura de separação: 18 - 30°C	Extração líquido-líquido : Éter etílico, clorofórmio e diclorometano	Volume do solvente de extração: 100 - 500 µL (para 500 µL de amostra)	Repetições da extração para cada amostra: De 1 a 4 vezes
--	---	----------------------------------	---	--	---	--

## Resultados e Discussões :

A análise das melhores condições foram obtidas a partir de estudos com o intuito de minimizar a influência do efeito Joule, bem como a obtenção de pico mais intenso para melatonina e com um menor tempo de migração.

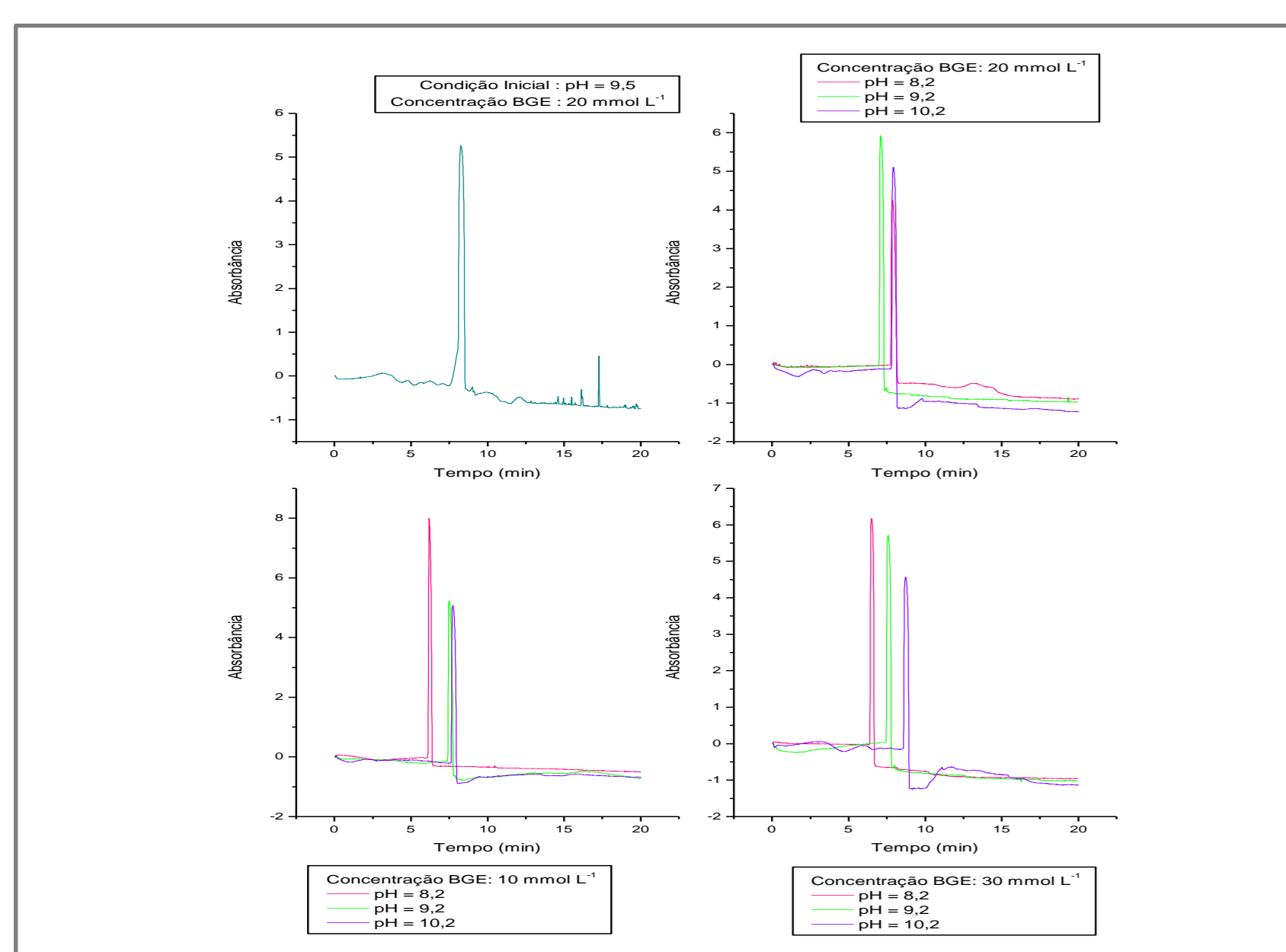


Figura 01: Planejamento fatorial para composição do BGE e condição de análise inicial

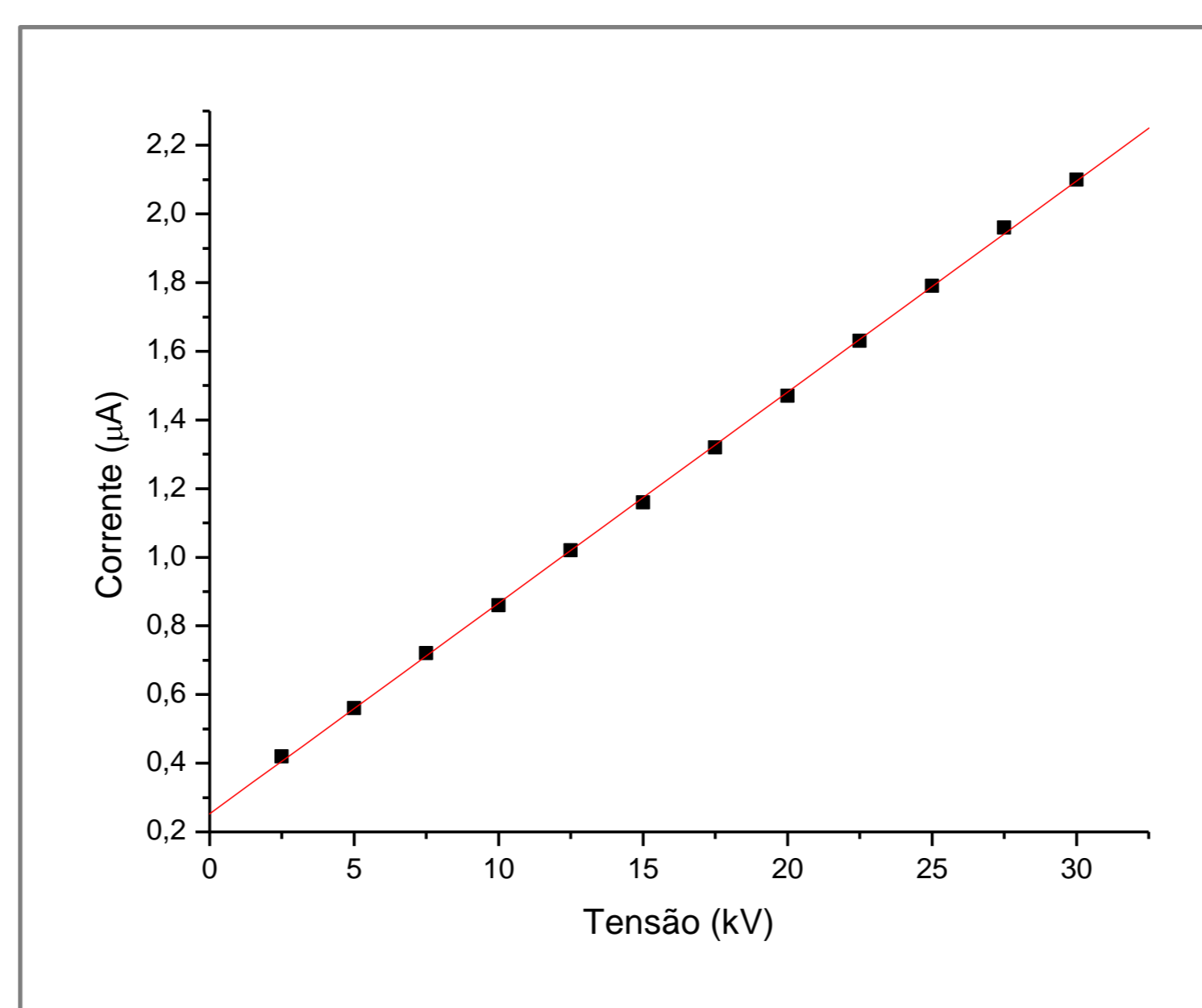


Figura 02: Curva de Ohm para BGE borato 10 mmol/L em pH 8,20

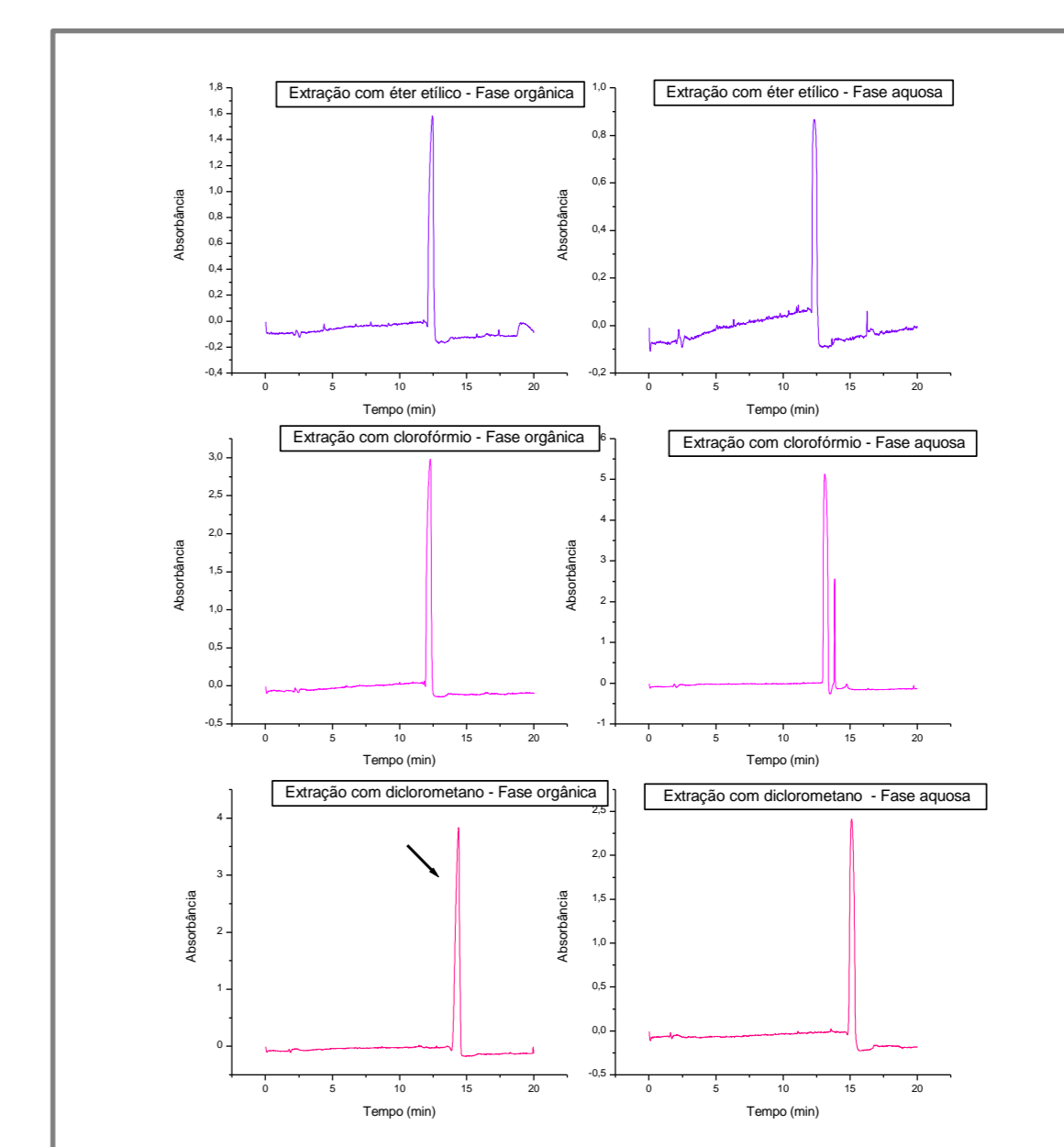


Figura 03: Otimização das extrações

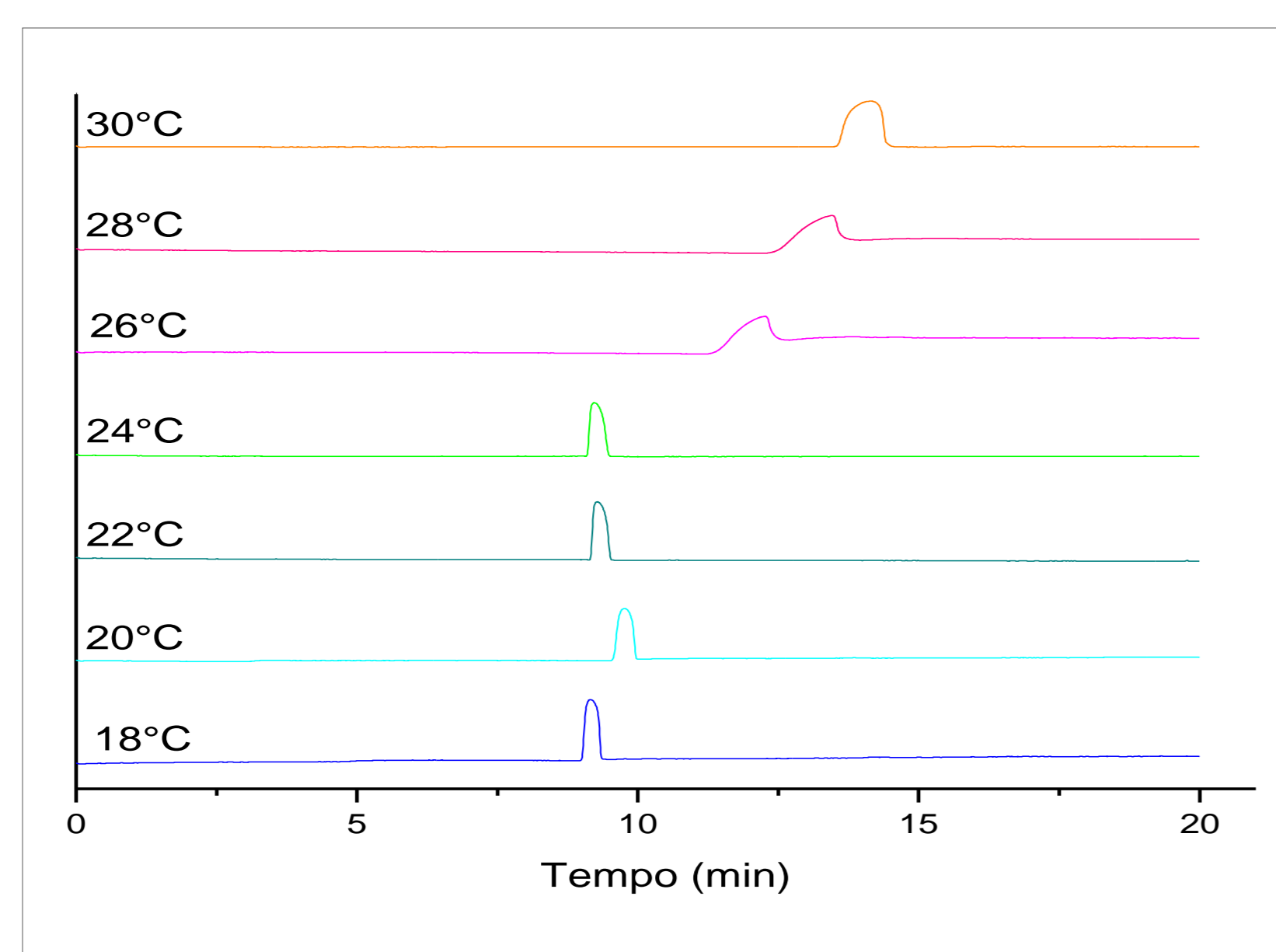


Figura 04: Otimização da temperatura de análise para BGE borato 10 mmol/L em pH 8,2

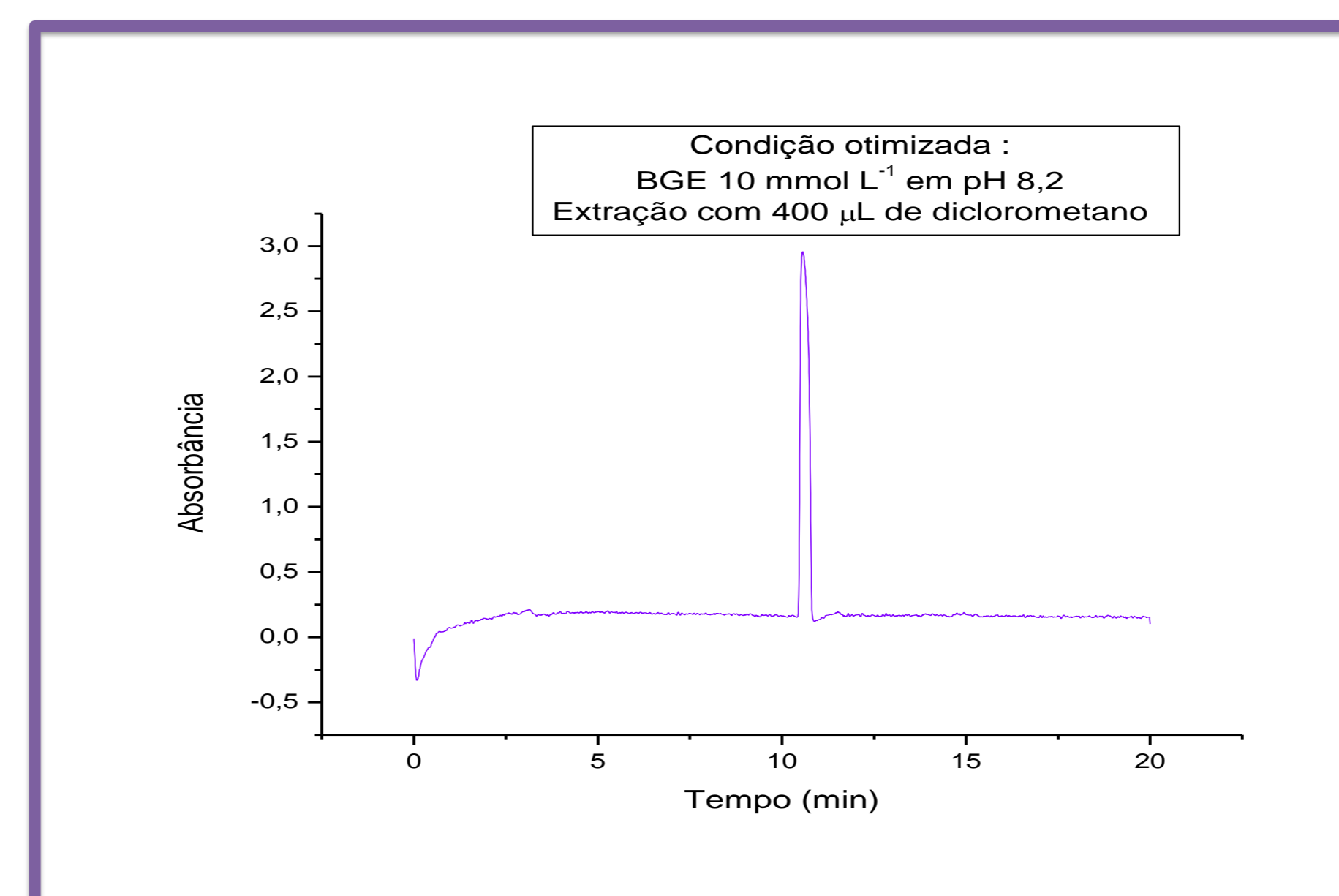


Figura 05: Eletroferograma nas condições otimizadas

## Conclusões:

As otimizações possibilitaram a obtenção das melhores condições de análise: BGE borato 10 mmol/L pH 8,2, tensão de 20kV e temperatura de 20°C. O padrão de melatonina é extraído com 400 µL de diclorometano e ressuspendido com 400 µL de água deionizada, após secagem em fluxo de nitrogênio (recuperação de 33,8%). As próximas etapas incluem a avaliação da extração de amostras de plasma de camundongos do grupo controle fortificadas com o padrão de melatonina, com pH controlado para maximizar a recuperação. Além disso, será feita a otimização do condicionamento do capilar entre corridas sucessivas, em busca de maiores repetibilidades. Posteriormente, o método será validado usando a matriz biológica para então quantificar em amostras de cobaias com doenças diversas.

## Referências Bibliográficas:

- Cardinali, D.P. E. *et al.*, sleep medicine review. 1998, vol 2, nº 3, 175-190
- Pobozy E. *et al.*, J. Sep. Sci. 2005, 28, 2165-2172

## Agradecimentos:

