

## OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO CLAE-EM PARA CARACTERIZAR OLIGÔMEROS DE AB: POTENCIAL USO NA TRIAGEM DE NOVOS FÁRMACOS

Alessandra Vasconcellos<sup>1</sup>, Igor Fontana<sup>2</sup>, Andréia Rocha<sup>3</sup>, Grace Gosmann<sup>3</sup>, Aline Zimmer<sup>4</sup>, Diogo Souza<sup>5</sup>, Diogo Miron<sup>6</sup> e Eduardo Zimmer<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

**Introdução:** A Doença de Alzheimer (DA) é uma das principais causas de demência mundialmente. Atualmente, acredita-se que uma conformação solúvel e oligomérica da proteína beta amiloide (A $\beta$ Os) possa ser o primeiro evento tóxico na DA, classificando-as em baixa (~13.5kDa) e alta massa molecular (~56kDa). A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), acoplada à uma coluna de exclusão molecular (EM), parece ser uma metodologia promissora para caracterizar os A $\beta$ Os. O objetivo deste trabalho foi otimizar e validar esta técnica como uma nova plataforma experimental para avaliação de potenciais fármacos que interajam com os A $\beta$ Os.

**Métodos:** Os A $\beta$ Os foram obtidos de acordo com o método previamente proposto (PNAS, 26;95(11):6448-53). A caracterização foi realizada por CLAE-EM acoplado a detector de fluorescência, para monitorar a resolução dos picos. Foram realizados dois desenhos experimentais: 1) concentração de fosfato de sódio e NaCl na fase móvel; 2) pH da fase móvel, temperatura da coluna e fluxo. Linearidade, precisão, estabilidade e limites de quantificação e detecção foram avaliados. Após, realizou-se ensaios preliminares de interação entre designadas moléculas e A $\beta$ Os.

**Resultados:** Obteve-se maior resolução nos picos de A $\beta$ Os sem NaCl e com baixas concentrações de fosfato de sódio (<3mM) na fase móvel. A temperatura da coluna não influenciou. Conforme estes parâmetros, realizou-se a validação do método, obtendo-se linearidade (R<sup>2</sup>=0.9979), precisão (RSD<15%), estabilidade e limites de quantificação e detecção (17.5/5 $\mu$ M), respectivamente. Preliminarmente, observou-se que é possível aplicar o método CLAE-EM para avaliar a interação entre potenciais moléculas e A $\beta$ Os.

**Conclusão:** Através da otimização do método CLAE-EM para caracterização dos A $\beta$ Os, determinou-se que a resolução dos picos é dependente da concentração de NaCl, fosfato de sódio e pH da fase móvel. Através da validação da técnica, observou-se que é possível aplicá-la na triagem de novos candidatos a fármacos que interajam com os A $\beta$ Os, demonstrando assim alto potencial translacional.

**Apoio financeiro:** CAPES [88881.141186/2017-01], CNPq [460172/2014-0], PRONEX, FAPERGS/CNPq [16/2551-0000475-7], INCT – Doenças cerebrais, excitotoxicidade e neuroproteção [465671/2014-4], FAPERGS/MS/CNPq/SESRS– PPSUS [30786.434.24734.23112017]