

## Desenvolvimento de método ortogonal para confirmação da sibutramina e seus metabólitos por CLAE- EM/EM para controle de dopagem

Mariana T. R. Da Motta (IC)<sup>\*</sup>, Amanda L. D. de Araujo (IC), Vinícius F. Sardela (IC), Henrique M. G. Pereira (PQ), Francisco Radler de Aquino Neto (PQ)

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, LAB DOP – LADETEC

<sup>\*</sup> radler@iq.ufrj.br

Palavras Chave: Sibutramina, CLAE-EM<sup>2</sup>, Dopagem.

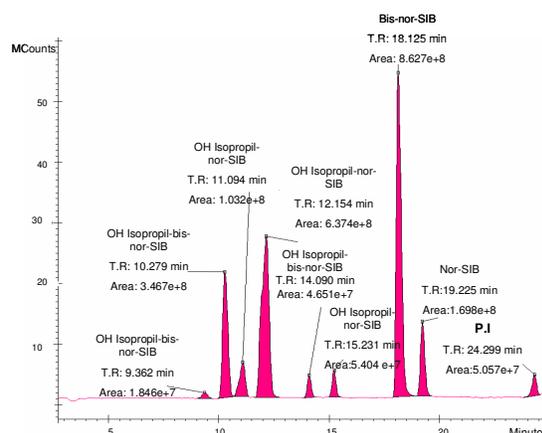
### Introdução

A sibutramina foi inicialmente desenvolvida como moderador de apetite, entretanto devido ao seu abuso potencial no esporte, foi banida em 2006 pela Agência Mundial Antidopagem (AMA) classificada como um estimulante. No ano de 2007 iniciou-se o monitoramento de sibutramina no Laboratório de Controle de Dopagem do Rio de Janeiro, usando como técnica analítica a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, técnica que durante anos foi a preferencial para a análise de estimulantes. Ainda no ano de 2007 a sibutramina foi responsável por quase a metade de todos os casos de abuso de estimulantes e um método ortogonal de confirmação que atenda aos critérios da AMA<sup>1</sup> ainda não está disponível. Com o advento do eletrospray foi possível acoplar a espectrometria de massas ao cromatógrafo líquido (CLAE-EM<sup>2</sup>). A cromatografia líquida é uma técnica com menor custo e que consegue acelerar o processo de preparação das amostras, pois não necessita de ensaios de derivatização. Devido a essas vantagens o objetivo deste trabalho é: i) identificar os metabólitos da sibutramina por CLAE-EM<sup>2</sup> e ii) criar um método ortogonal para essa substância tornando sua confirmação mais rápida e com menor custo.

### Resultados e Discussão

O método utilizou uma urina de estudo de excreção a partir da administração de dose única do fármaco por um voluntário que coletou a urina três horas após a ingestão do medicamento. A amostra passou por uma etapa de hidrólise com enzima  $\beta$ -glicuronidase tipo *Escherichia coli* seguida por extração líquido-líquido com *tert*-butilmetiléter em pH alcalino<sup>2</sup>, as análises por CLAE-EM<sup>2</sup> (Varian1200L) foram realizadas monitorando-se os íons pseudo-moleculares e suas transições descritas abaixo: sibutramina ( $m/z$  279 >  $m/z$ 125) e ( $m/z$  279 >  $m/z$  139) de seus metabólitos: nor-sibutramina ( $m/z$  265 >  $m/z$  125) e ( $m/z$  265 >  $m/z$  139), bis-nor-sibutramina ( $m/z$  251 >  $m/z$  125) e ( $m/z$  251 >  $m/z$  139); HO(isopropil)-bis-nor-sibutramina ( $m/z$  267 >  $m/z$  125) e ( $m/z$  267 >  $m/z$  177) e seu isômero HO(ciclo)-bis-nor-Sibutramina; HO(isopropil)-nor-sibutramina ( $m/z$  281 >  $m/z$  125) e ( $m/z$  281 >  $m/z$  177) e seu isômero HO(ciclo)-nor-sibutramina. Como supracitado foram monitorados seis metabólitos, contudo no

cromatograma de íons totais foram identificados mais de seis picos, não sendo nenhum deles interferente da matriz, fato comprovado pela ausência de interferentes nesses tempos de retenção no controle Branco de urina, isso se deve ao fato de dois metabólitos HO(ciclo)-nor-sibutramina e HO(ciclo)-bis-nor-sibutramina possuírem possíveis isômeros de posição na hidroxila da cadeia ciclobutano que podem causar variações no tempo de retenção devido a diferentes interações da hidroxila com a coluna. A figura 1 mostra a identificação dos metabólitos e também seus isômeros.



**Figura1.** Cromatograma do somatório de íons selecionados ( $m/z$  279, 265, 251, 267, 281) após otimização de urina extraída de sibutramina e P.I. (metiltestosterona  $m/z$  303 com concentração final na amostra de 30ng/ml).

### Conclusões

A detecção dos metabólitos da sibutramina por CLAE-EM<sup>2</sup> foi possível. Esses resultados possibilitam a criação de um novo método de confirmação para essa substância com menor custo e maior rapidez, além de permitir a investigação sobre novos metabólitos.

### Agradecimentos

FUJB, FAPERJ, CNPq, CBF.

<sup>1</sup> Technical Document TD2003IDCR, Identification Criteria for Qualitative Assays Incorporation Chromatography and Mass Spectrometry, Version 1.2, WADA, Montreal, 2003, [http://www.wada-ama.org/rtecontent/document/criteria\\_1\\_2.pdf](http://www.wada-ama.org/rtecontent/document/criteria_1_2.pdf).

<sup>2</sup> H.M.G. Pereira, M.C. Padilha, R.M. Bento, T.P. Cunha, N.G. Lascas, F.R. Aquino Neto, Trends in Analytical Chemistry, 27 (2008) 648

