

## Análise de estimulantes por injeção direta após diluição por CLAE-EM<sup>2</sup>

Juliana de L. Castro<sup>1\*</sup>(IC), Vinícius F. Sardela<sup>1</sup>(PG), Amanda L. D. Araujo (IC), Henrique Marcelo G. Pereira<sup>1</sup>(PQ), Francisco Radler de Aquino Neto<sup>1</sup>(PQ). \* [julianalima@iq.ufrj.br](mailto:julianalima@iq.ufrj.br)

<sup>1</sup>LAB DOP-LADETEC, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Ilha do Fundão, CT, Bloco A, CEP 21949-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Palavras Chave: Estimulantes, injeção direta, CLAE-EM<sup>2</sup>.

### Introdução

Estimulantes estão entre as substâncias com seu uso banido pela Agência Mundial Antidopagem (AMA)<sup>1</sup> por alterarem o desempenho dos atletas em competições esportivas. Atualmente, o método utilizado no Laboratório de Dopagem do Rio de Janeiro (LABDOP-LADETEC/IQ-UFRJ) como procedimento inicial de análise envolve extração líquido-líquido (ELL) seguido por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Por esse método, observou-se que vários analitos sofrem interferência no sinal quando há presença de paracetamol na urina do atleta. Para detecção de crotetamida, niquetamida, cropropamida e pentetrazol especificamente, utiliza-se um método complementar envolvendo uma etapa de ELL com posterior análise por CG acoplado a um detector de nitrogênio e fósforo (CG-DNP). Porém a realização do método por DNP envolve uma complexa logística para um sistema poucas vezes utilizado em rotina. Com isso, o objetivo do trabalho foi desenvolver um método de monitoramento de cropropamida, crotetamida, niquetamida e pentetrazol por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas-massas (CLAE-EM<sup>2</sup>), utilizando a técnica de "diluição e injeção", sem tratamento prévio da amostra.

### Resultados e Discussão

O preparo da amostra consiste apenas em diluir 10 µL da mesma em 2,5 mL de solução de água/acetoneitrila 1:1, 5mM de formiato de amônio e 0,1% de ácido fórmico e adicionar 10 µL de 7-propilteofilina 1ng/mL (padrão interno). Em seguida, a amostra é injetada no sistema CLAE-EM<sup>2</sup>. A partir do monitoramento do íon precursor e dos três fragmentos mais abundantes, observou-se que o método possibilitou a detecção dos analitos propostos, como mostra a figura 1. Comparando os resultados da análise de brancos de urina igualmente fortificados com crotetamida, cropropamida, niquetamida e pentetrazol, um contendo paracetamol e outro livre de paracetamol, observou-se que o mesmo não causa interferência no sinal dos analitos e, apesar do procedimento dispensar o pré-tratamento da amostra, também não foi observada interferência da matriz na análise. O método foi validado segundo as diretrizes da AMA,

sendo avaliadas as seguintes figuras de mérito: interferência da matriz, limite de detecção e recuperação do analito, especificidade, robustez e repetitividade do método. Constatou-se que o mesmo atende aos critérios de identificação estabelecidos e o limite de detecção dos analitos foi abaixo de 50 ng/mL. Observa-se ainda uma melhor caracterização da substância, visto que a técnica de CLAE-EM<sup>2</sup> gera um cromatograma com o tempo de retenção do analito ( $t_R$ ) e um espectro de massas, com no mínimo três íons diagnósticos, enquanto que a técnica de CG-DNP informa apenas o  $t_R$ .

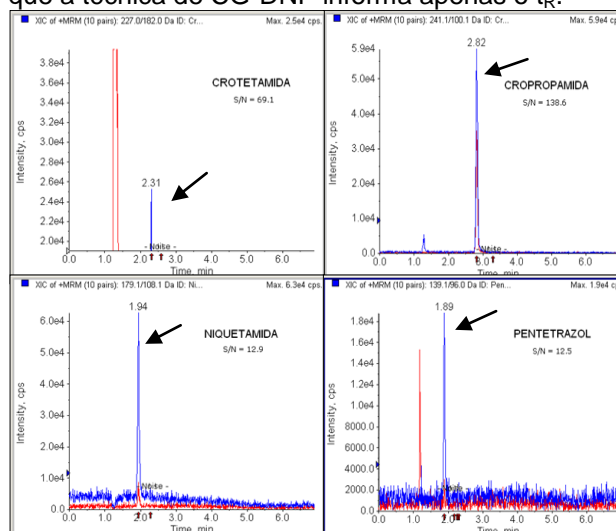


Figura 1. Cromatogramas de íons extraídos de crotetamida, cropropamida, niquetamida e pentetrazol em 50 ng/mL. As setas indicam o sinal correspondente a cada analito.

### Conclusões

Com base nos resultados, o método proposto é considerado eficaz na análise de crotetamida, cropropamida, niquetamida e pentetrazol visto que não compromete a detectabilidade dos analitos, elimina a interferência do paracetamol e é mais diagnóstico que o método utilizado atualmente. Além disso, diminui consideravelmente o tempo de análise e o custo com mão de obra e reagentes.

### Agradecimentos

FAPERJ, CNPq

<sup>1</sup>WADA. The 2010 Prohibited List. [http://www.wada-ama.org/Documents/World\\_Anti-Doping\\_Program/WADP-Prohibited-list/WADA\\_Prohibited\\_List\\_2010\\_EN.pdf](http://www.wada-ama.org/Documents/World_Anti-Doping_Program/WADP-Prohibited-list/WADA_Prohibited_List_2010_EN.pdf)