

## INTRODUÇÃO

O uso de suplementos alimentares aumentou significativamente nos últimos anos devido ao desejo de perder peso e aumentar a performance em esportes. Inúmeros estudos comprovaram o risco de toxicidade dos suplementos alimentares que contém, dentre outras substâncias, *p*-sinefrina, efedrina, octopamina e cafeína. Diversos trabalhos, inclusive do nosso grupo de pesquisa (Schmitt et. al, 2012), já realizaram estudos de toxicidade e o controle de qualidade desses compostos através da análise por cromatografia em fase gasosa associada à detector de ionização de chama e/ou detector de massas. No entanto, essa técnica requer etapas prévias de preparação de amostra, como a derivatização, tornando as análises demoradas e de alto custo, justificando o desenvolvimento de técnicas de maior rendimento.

## OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho é desenvolver metodologia para análise de efedrina, octopamina, *p*-sinefrina e cafeína, utilizando a técnica de cromatografia líquida associada à detector de massas (CL/EM).

## MATERIAIS E MÉTODOS

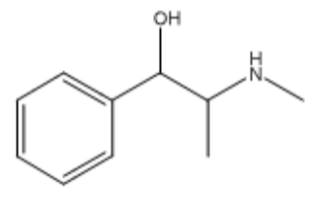
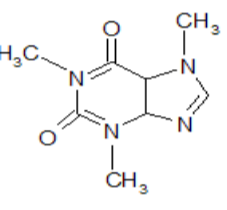
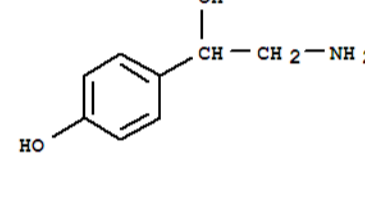
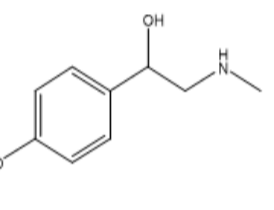
As análises foram realizadas em cromatógrafo líquido associado à detector de massas (1260/6120) da Agilent, localizado no Laboratório de Produção de Padrões Secundários (LAPPS) da Faculdade de Farmácia da UFRGS. Foram testadas as colunas C18 (250 mm x 4,6 mm x 5 µm - Agilent), Hilic (150 mm x 4,6 mm x 2,6 µm - Phenomenex) e Zorbax Ciano (250 mm x 4,6 mm x 5 µm - Agilent). Os solventes testados como fase móvel foram Acetonitrila, Metanol, Acetato de Amônio e Formiato de Amônio. Foram realizadas análises no modo *full* SCAN e SIM e também testados os modos de ionização positivo e negativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes realizados na coluna C18 não demonstraram boa resolução dos picos cromatográficos, que apresentaram tempo de retenção (TR) muito próximos ao volume morto. Foi utilizado como fase móvel o tampão Acetato de Amônio em pH = 6,6 e Acetonitrila (80:20), no modo isocrático, assim como para a coluna Hilic, que apresentou a coeluição dos compostos. A coluna Zorbax Ciano se mostrou a mais adequada para as análises. Foi utilizado como fase móvel o tampão Formiato de Amônio em pH = 3,4 e Metanol (20:80), no modo isocrático, sob um fluxo de 0,8 mL/min.

As substâncias apresentaram boa resolução dos picos tanto no modo SCAN (50-400 m/z), quanto no SIM, através dos íons qualificadores escolhidos para cada analito (Tabela 1). Foi escolhido o modo de ionização positivo para as análises. O cromatograma obtido (Figura 1) demonstrou uma boa separação da cafeína, *p*-sinefrina e efedrina. A octopamina, no entanto, apresentou coeluição com a *p*-sinefrina, mesmo quando analisada no modo SIM, demonstrando boa resolução apenas quando analisada separadamente (Figura 2). O tempo total da análise cromatográfica foi de 15 minutos.

Tabela 1. Íons qualificadores escolhidos para efedrina, *p*-sinefrina, cafeína e octopamina.

	EFEDRINA	CAFEÍNA	OCTOPAMINA	SINEFRINA
Íons qualificadores	166*; 105; 77	195*; 109; 165	154*; 123; 95	168*; 150; 107
Fórmula estrutural				

\* [M+H]<sup>+</sup>

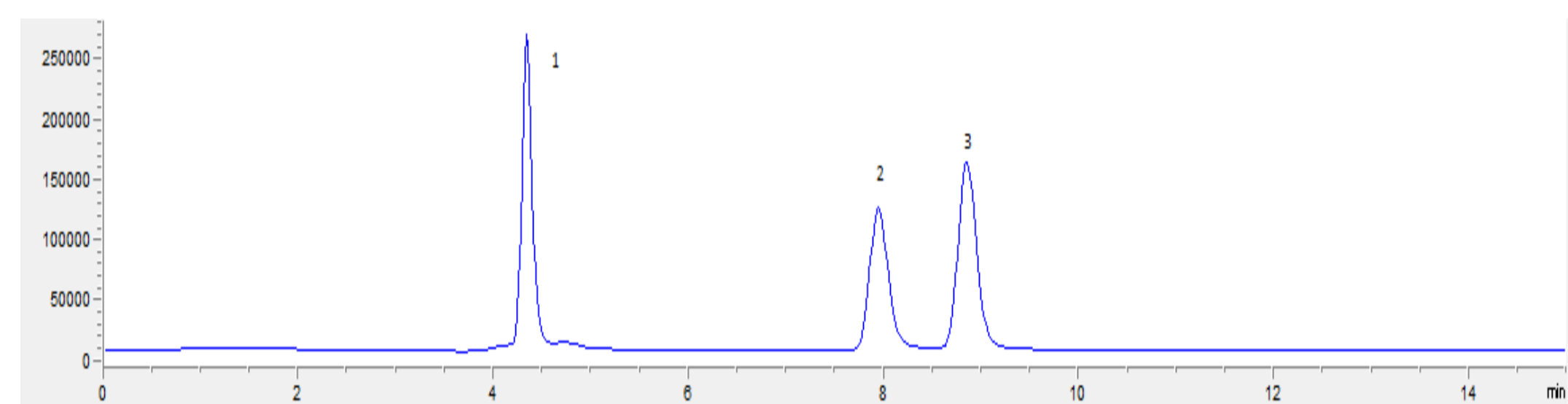


Figura 1. Cromatograma de análise da cafeína (1), *p*-sinefrina (2), e efedrina (3) (5µg/mL), utilizando CL/EM, no modo SIM.

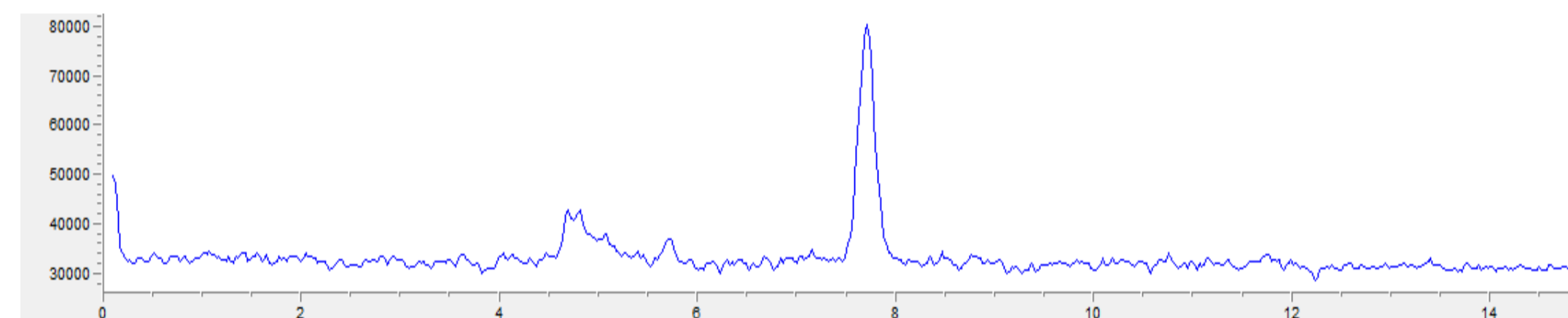


Figura 2. Cromatograma de análise da octopamina (5µg/mL), utilizando CL/EM.

## CONCLUSÃO

O método cromatográfico mais adequado foi o desenvolvido na coluna Zorbax Ciano com a fase móvel Formiato de Amônio em pH = 3,4 e Metanol (20:80), no modo isocrático e utilizando o modo de ionização positivo. O método desenvolvido está ainda em fase de otimização para possibilitar a separação cromatográfica da octopamina e *p*-sinefrina, e, posteriormente, será validado conforme protocolo da ANVISA, para sua aplicação em amostras comerciais.

## AGRADECIMENTOS

À equipe do Labtoxico, em especial à doutoranda Máira Kerpel, à mestranda Ana Cláudia Fagundes e à Prof. Dr. Renata Limberger.

## REFERÊNCIAS

SCHMITT, G. C.; ARBO, M. D.; LORENSI, A. L.; MACIEL, E. S.; KRAHN, C. L.; MARIOTTI, K. C.; DALLEGRAVE, E.; LEAL, M. B.; LIMBERGER, R. P. Toxicological Effects of a Mixture Used in Weight Loss Products: *p*-Synephrine Associated with Ephedrine, Salicin, and Caffeine. *International Journal of Toxicology*, v. 31, n. 2, p. 184-191, 2012.