









**QUESTÃO 3**

The spectra displayed in Figure 1 originate from isomeric ketones analysed by electron ionization. They comprise only linear saturated chains. Give the developed formula of each of these ketones. Justify your answer by interpreting at least three fragments, one of them resulting from a rearrangement.

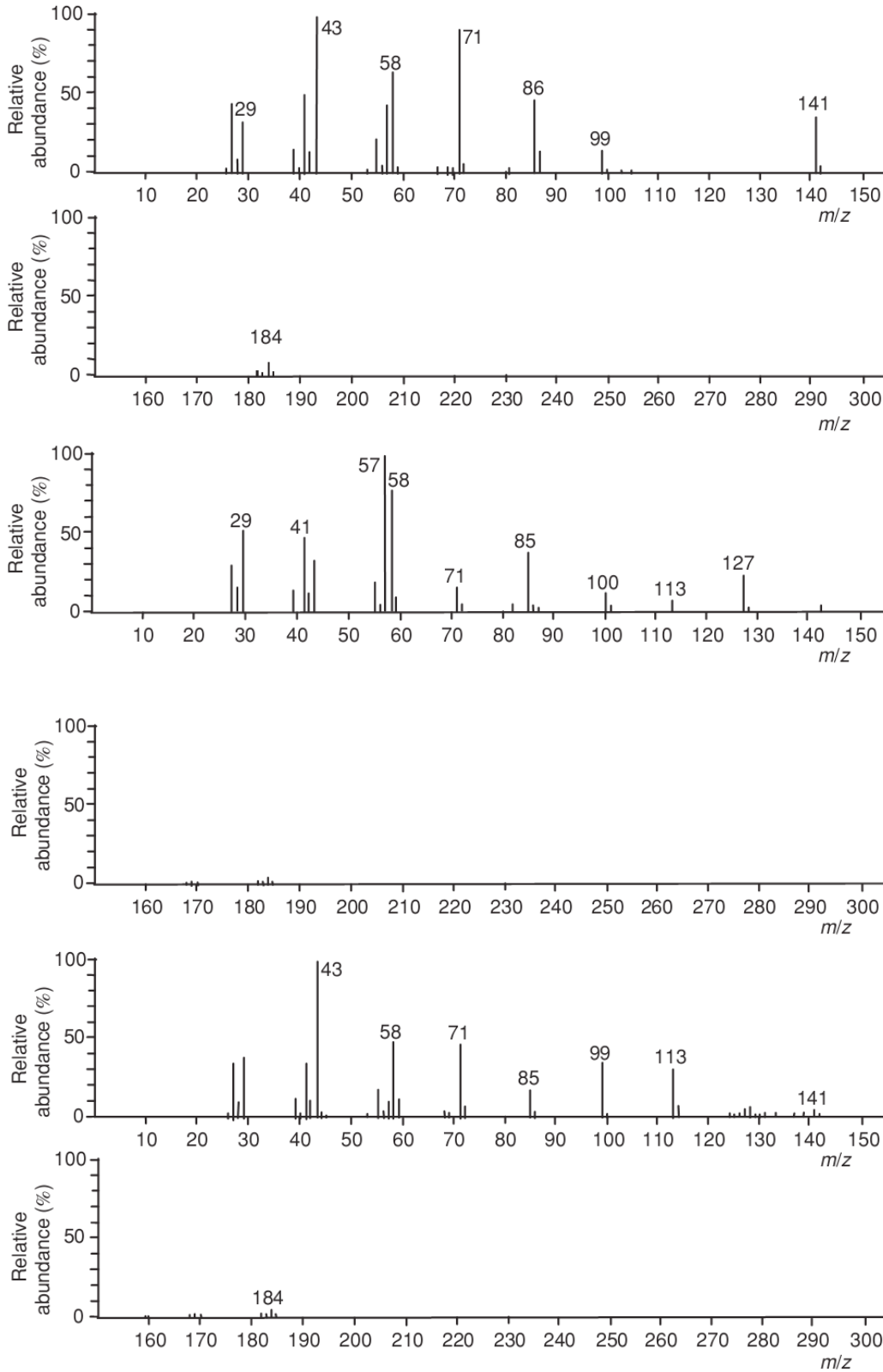


Figure 1: Spectra of three isomass ketones of molecular weight 184 Da.

---



---



---



**QUESTÃO 4**

Formoterol é um beta-agonista e a sua apresentação para inalação é utilizada no tratamento de asma e de doença pulmonar obstrutiva crônica, já que interage especificamente com receptores beta-2 adrenérgicos, induzindo à broncodilatação. Como broncodilatador, o uso do formoterol pode fornecer uma vantagem competitiva ao atleta e por essa razão é proibido pela WADA (*World Anti-Doping Agency*). Essa substância precisa ser quantificada em amostras de urina de atletas para determinar se um determinado resultado analítico é adverso, já que o limite de decisão é de 50 ng/mL.

O método a seguir foi desenvolvido e validado para análise dessa substância por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial utilizando ionização eletrospray (CL-EM/EM).

**Preparo das amostras:**

Foi construída uma curva analítica fortificando urinas em branco com soluções de formoterol (com volumes variados) e de padrão interno formoterol- $d_6$  (com volumes constantes). As amostras da curva analítica e as amostras problemas foram hidrolisadas, em pH 7, por 1 hora a 55 °C. Após centrifugação, os sobrenadantes foram injetados num sistema de CL-EM/EM.

**Instrumentação:**

A análise por CL-EM/EM foi realizada num espectrômetro triplo quadrupolo, com fonte eletrospray, operando no modo positivo. A fonte estava acoplada *online* em um sistema de cromatografia líquida. A tabela, a seguir, informa detalhes do sistema:

**Tabela:**

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| Coluna cromatográfica               | C <sub>18</sub> (100 x 2,1 mm, 5 $\mu$ m) |
| Fase móvel A                        | 0,1% de ácido fórmico em água             |
| Fase móvel B                        | 0,1% de ácido fórmico em acetonitrila     |
| Modo de eluição                     | gradiente                                 |
| Fluxo                               | 600 $\mu$ L/min                           |
| Volume de injeção                   | 2 $\mu$ L                                 |
| Voltagem do capilar                 | 4200 V                                    |
| Temperatura do capilar              | 320 °C                                    |
| Gás de bainha (nebulizante )        | 60 psi                                    |
| Gás auxiliar                        | 30 psi                                    |
| Pressão do gás de colisão (argônio) | 1,5 mTorr                                 |

Foi realizado o monitoramento de reação selecionada ( $m/z$  345  $\rightarrow$  121 para o formoterol).

Considerando as informações acima, responda:

A. Qual a função da aplicação de uma voltagem no capilar?

---

---

---

---

---

---

---

---

B. Era realmente necessário utilizar o gás de colisão?

C. Explique a preferência pelo sistema triplo quadrupolo para a realização de análises de quantificação de substâncias.

D. Defina monitoramento de reação selecionada.



---

---

---

---

**QUESTÃO 5**

Considerando a análise de formoterol descrita anteriormente e sabendo que é excretado na urina nas formas livre e glicocjugado, responda:

A. Qual o objetivo de realizar uma hidrólise enzimática?

---

---

---

B. Qual a função da solução tampão utilizada durante o preparo da amostra?

---

---

---

C. Qual o objetivo da centrifugação durante o preparo da amostra?

---

---

---



UFRJ