

## Marcadores endógenos para avaliação de hidrólise enzimática para análise de estimulantes e narcóticos

Mariani das Neves<sup>1</sup>(IC), Vinicius Figueiredo Sardela<sup>1</sup>(IC), Monica Costa Padilha<sup>1</sup>(PQ), Henrique Marcelo G. Pereira<sup>1</sup>(PQ), Francisco Radler de Aquino Neto<sup>1</sup>(PQ). \* [radler@iq.ufrj.br](mailto:radler@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: Esteróides, Endógenos, Hidrólise enzimática, CGAR-EM

### Introdução

O processo de biotransformação de um fármaco envolve etapas de conjugação, fruto do metabolismo de fase II. Os métodos destinados a análise de fármacos no controle de dopagem envolvem etapas de hidrólise para o isolamento da fração aglicona. Atualmente o Laboratório de Controle de Dopagem do Rio de Janeiro (LAB DOP – LADETEC/IQ-UFRJ) emprega na análise de narcóticos, estimulantes, e beta-bloqueadores (Triagem II), uma etapa de hidrólise com *Helix pomatia*. Essa hidrólise torna-se crítica no caso da análise de heroína e outros opiáceos, excretados majoritariamente glicoconjugados. Usualmente, padrões conjugados são acrescentados às amostras e monitorados como forma de avaliar a eficiência da hidrólise, aumentando o custo da análise. O presente trabalho tem por objetivo: i) avaliar a robustez do método hoje utilizado para a detecção de estimulantes e narcóticos no que se refere a etapa de hidrólise, evidenciando os parâmetros que mais influenciam no processo. ii) avaliar o emprego de uma substância endógena, no caso, a androsterona (excretada majoritariamente glicoconjugada), como controle de eficiência da hidrólise de um lote analítico.

### Resultados e Discussão

A androsterona (3 $\alpha$ -Hidroxi-5 $\alpha$ -androstan-17-ona) e eticolanolona (3 $\alpha$ -Hidroxi-5 $\beta$ -andostan-17-ona) são esteróides naturais metabólitos da testosterona<sup>1</sup> passíveis de monitoramento na análise de narcóticos e estimulantes (fig.1) presentes na urina. Pequenas variações, simulando distorções nas condições ideais, foram aplicadas as condições de hidrólise adotadas na rotina do LAB DOP. Nesse experimento uma alíquota **A1** foi tratada nas condições atuais: 0,7mL de tampão acetato 1,1M, pH 5,2 e 50 $\mu$ l de enzima  $\beta$ -glicuronidase *H. pomatia*, por três horas em banho maria à 55°C. Nas seguintes alíquotas modificou-se apenas uma das condições: **A2** – Ajuste do pH para 4,5; **A3** – adição de 25 $\mu$ l de enzima; **A4** – banho-maria a temperatura de 65°C; **A5** - incubação por uma hora; **A6** – ajuste do pH para 6,5; **A7** – banho-maria a temperatura de

45°C; **A8** – ausência de enzima. (fig.2). A abundância dos endógenos diminuiu frente às variações empregadas. O marcador androsterona comporta-se de forma semelhante aos demais compostos monitorados. Entretanto a concentração de Androsterona e Etiocolanolona varia de indivíduo<sup>2</sup>. A continuidade desse estudo será feito em conjunto com as análises de Hormônios Esteroidais que também são realizadas no Laboratório de Controle de Dopagem do Rio de Janeiro (LAB DOP – LADETEC/IQ-UFRJ).

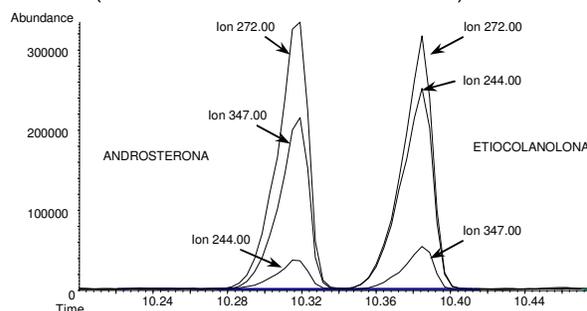


Figura 1. Espectro de massas da androsterona e eticolanolona

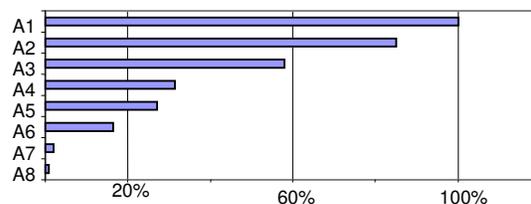


Figura 2: Variações das condições de hidrólise.

### Conclusões

Mediante os resultados obtidos nesse estudo, podemos perceber que o monitoramento da hidrólise pode ser realizado com a observação da androsterona em uma urina conhecida e determinar quais variáveis são agravantes no processo de hidrólise.

### Agradecimentos

FUJB, FAPERJ, CNPq

<sup>1</sup> M. Donike, 10<sup>th</sup> cologne Workshop on Dope Analysis. 1983, 52.

<sup>2</sup> Curtis, M. D.; Shiu, K.; Butler, W. M. e Huffmann, J. C. J. Am. Chem. Soc. 1986, 108, 3335.