

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE GLICOCORTICÓIDES EXÓGENOS EM URINA DE ATLETAS

Renata Filgueiras Soares* (PG), Mariana Trad Rosner da Motta (TC), Henrique Marcelo Gualberto Pereira (PQ), Francisco Radler de Aquino Neto (PQ)

renatasoares@iq.ufrj.br

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, LADETEC-LABDOP, Ilha do Fundão, CT, Bloco A, CEP 21949-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Palavras Chave: Glicocorticóides, Controle de dopagem, CLAE-EM-EM, Validação de método, Estudo de excreção.

Introdução

Glicocorticóides são fármacos com ação antiinflamatória utilizados no tratamento de diversas patologias. A utilização dessas substâncias permite a participação de atletas lesionados em competições, reprimindo a dor e a inflamação. Devido ao abuso por atletas, os glicocorticóides estão inseridos na atual lista de substâncias proibidas da Agência Mundial Antidopagem (AMA)¹. A AMA determinou que os métodos empregados na análise de glicocorticóides devem apresentar um limite mínimo de desempenho requerido de 30 ng/mL.

No âmbito esportivo, a permissividade do uso de glicocorticóides exógenos está relacionada à via de administração do fármaco. Todos os glicocorticóides são proibidos quando administrados por via sistêmica, requerendo uma isenção para uso terapêutico. Vias não sistêmicas como preparações tópicas não são proibidas e não requerem qualquer tipo de isenção.

Objetivo

Desenvolver e validar um método analítico para confirmação de 14 glicocorticóides exógenos em urina de atletas e aplicar o método desenvolvido em urina de voluntários realizando estudo de excreção.

Procedimento Experimental

O desenvolvimento do método empregou um sistema CLAE-EM² (Varian, modelo 1200L). O método baseou-se numa extração líquido-líquido (ELL) com *terc*-butilmetiléter (TBME) utilizando metiltestosterona como padrão interno (PI) a partir de 3 ml de urina. Posteriormente à extração dos analitos, a fase orgânica (superior) foi seca sob fluxo de nitrogênio e o resíduo ressuspendido com 200µL de fase móvel (ACN: H₂O (1:1), 0,2% de ácido fórmico e 5mM de formato de amônio). Após o desenvolvimento do método, o mesmo foi validado segundo os critérios estabelecidos pelo *International Standard for Laboratories (ISL)* da AMA e aplicado em urina de voluntários, de modo a avaliar o perfil de excreção urinária de prednisolona após a administração oral de 20 mg Prelone[®] de 12 em 12

horas durante 5 dias. Avaliou-se também o potencial de geração de resultados analíticos adversos (RAA) pela administração de Omcilon[®] - A Orabase (dose única) e Trok[®] (diária) por via tópica.

Resultados e Discussão

O método baseou-se numa extração líquido-líquido seguida de análise por CLAE-EM-EM. Os resultados da validação foram: linearidade adequada com coeficiente de correlação (r) maior ou igual a 0,98, recuperação relativa entre 70 e 120% para todos os analitos, repetitividade expressa em termos de desvio padrão relativo inferior a 20%, limite de detecção ≤ 5ng/mL e limite de quantificação ≤ 15 ng/mL.

O método foi utilizado em estudos de excreção resultado da administração por via sistêmica (oral) e não sistêmica (tópica e ginecológica). Na administração de 20 mg de Prelone[®] por via oral, a concentração urinária observada ultrapassa o valor de 30 ng/mL em várias ordens de grandeza. Tal valor não foi alcançado na administração por via não sistêmica, possivelmente como consequência dos baixos níveis circulantes do fármaco devido às baixas doses administradas, devido a pequenos períodos de uso e/ou baixa biodisponibilidade.

Os resultados demonstraram que o método desenvolvido com uso de CLAE-EM-EM apresentou grande eficácia, sensibilidade e seletividade para detecção dessas substâncias no controle de dopagem, além de dispensar no método uma etapa de derivatização.

Conclusões

O método desenvolvido permitiu a identificação e quantificação de 14 glicocorticóides em urina humana usando CLAE-EM-EM. O método foi validado, tendo cumprido os critérios exigidos pelo ISL da AMA.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, Faperj, FUJB.

¹ Prohibited list 2009.

²The InternationalStandard for Laboratories, version 4.0, July 2009.