Desenvolvimento de método analítico para detecção de glicocorticóides endógenos em urina por CLAE-EM-EM.

Aline Campos de Azevedo da Silva (PG)*, Henrique Marcelo Gualberto Pereira (PQ), Francisco Radler de Aquino Neto (PQ).

*alinecampos@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 endógenos, CLAE-EM-EM, urina*

Introdução

Os glicocorticóides são hormônios esteróides secretados pelo córtex-adrenal e exercem um papel importante sobre o metabolismo da glicose. Além disso, possuem potente efeito antiinflamatório e imunossupressor.

A detecção de esteróides endógenos na urina é importante no diagnóstico de muitas desordens endócrinas, tal como no controle de dopagem no esporte, uma vez que podem atuar como marcadores, tanto para o abuso de glicocorticóides endógenos e exógenos no esporte, quanto como indicadores endógenos da atividade do citocromo P450 (CYP3A4) na clínica médica.

Diversas metodologias têm sido propostas para detecção de glicocorticóides endógenos e sintéticos utilizando diferentes técnicas de análise. No entanto, devido às características das substâncias em questão, o CLAE-EM-EM é a técnica de escolha, devido a sua sensibilidade, seletividade e por dispensar etapas de derivatização previas a análise.

Objetivo

Desenvolver um método analítico para detecção de glicocorticóides endógenos (cortisol, cortisona e 6β-hidroxicortisol) em urina por CLAE-EM-EM. Uma vez desenvolvido e validado, o método encontrará vocação no estudo do perfil endógeno dos glicocorticóides em atletas, avaliando a influência do estresse físico na excreção dos mesmos.

Procedimento Experimental

O método baseou-se na extração líquido-líquido (ELL) utilizando acetato de etila: terc-butilmetiléter (TBME) (1:3) como solvente extrator a partir de 2 mL de urina com adição prévia de flumetasona como padrão interno (PI). Posteriormente, a fase orgânica foi seca sob fluxo de nitrogênio e o resíduo ressuspendido com 200µL de fase móvel (MEOH: H_2O (1:1), 5mM de formato de amônio e 0,1% de ácido fórmico). 20µl foram injetados em um sistema CLAE-EM-EM Varian, modelo 1200L (Varian, Palo Alto, CA, EUA). A aquisição dos íons diagnósticos se deu através da estratégia de monitoramento de reações múltiplas (MRM), após otimização das condições ótimas de operação da interface *electrospray*.

Resultados de Discussão

O procedimento empregado para a extração dos analitos mostrou-se eficiente obtendo-se recuperações entre 88,8 à103%.

A separação cromatográfica foi alcançada com uma resolução superior a 1,5 no menor tempo possível a partir da eluição por gradiente.(Figura 1).

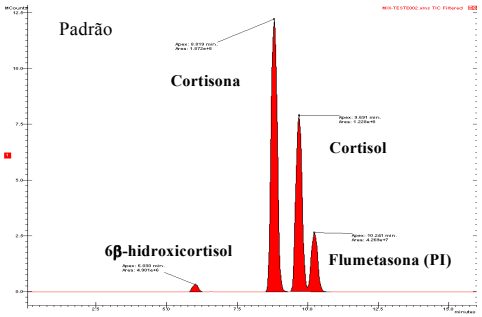

Figura 1: Separação cromatográfica dos glicocorticóides endógenos

A combinação entre a separação cromatográfica alcançada e os dados obtidos através da estratégia de MRM permitiu ao método apresentar alta seletividade, o que configura sua aplicação em análises qualitativas segundo os critérios da Agência Mundial Anti-dopagem (AMA).

Dados preliminares de validação indicam sua aplicabilidade também dentro de uma perspectiva analítica quantitativa.

Conclusões

O método desenvolvido permitiu a identificação dos analitos de interesse: cortisol, cortisona e 6β-hidroxicortisol em urina a partir de uma ELL com uso de CLAE-EM-EM.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, Faperj, FUJB.