

# DETECÇÃO DE ESTEROIDES ANABÓLICOS ANDROGÊNICOS E SEUS PRODUTOS DE BIOTRANSFORMAÇÃO EM DRIED URINE SPOTS POR IONIZAÇÃO POR PAPER SPRAY ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (PS-MS)

## RESUMO

Os esteroides anabólicos androgênicos (EAA), assim como outras substâncias ergogênicas e fármacos estimulantes, são utilizados por atletas de elite e fisiculturistas com o objetivo de melhorar o desempenho e aumentar a massa muscular. A utilização de EAA no esporte foi proibida pelo Comitê Olímpico Internacional em 1967, porém somente foram incluídos na lista de substâncias proibidas em 1976, após o desenvolvimento da técnica de radioimunoensaio, que tornou possível a detecção do doping. Essas substâncias são utilizadas na clínica para tratar diversas doenças, entretanto, o uso não terapêutico propagou-se a partir da década de 1960, assim como o uso indiscriminado por atletas amadores e fisiculturistas com fins estéticos. A utilização de doses supra-fisiológicas dos EAA pode causar efeitos adversos diversos como distúrbios psiquiátricos, cardiomegalia, arritmia, derrame, infartos, paranoia, irritabilidade extrema, depressão, ginecomastia, calvície, amenorreia e acne vulgaris. O abuso de EAA é notável, visto que são a principal droga de escolha para o doping, principalmente em esportes como fisiculturismo, atletismo e ciclismo e em atletas do sexo masculino. As análises toxicológicas permitem identificar, detectar e quantificar essas substâncias e seus produtos de biotransformação em diferentes matrizes biológicas, tornando possível o rastreamento do uso de drogas proibidas no esporte. Dessa forma, é possível impedir que os atletas alcancem vantagem competitiva. A utilização de métodos de amostragem alternativos tem se popularizado, visto que necessitam de pouco volume de amostra e podem ser armazenadas em temperatura ambiente. O dried urine spots (DUS) se caracteriza pela adição de quantidades pequenas de urina em papel, permitindo a análise qualitativa ou quantitativa após a sua secagem. O DUS é uma técnica fácil, simples e rápida que tem potencial para ser um método alternativo para a detecção de EAA. A ionização por paper spray acoplada à espectrometria de massas (PS-MS) foi desenvolvida a partir de métodos alternativos como dried blood spots, semelhante ao DUS, e permite análises mais rápidas com alta especificidade e baixos limites de detecção. Sendo assim, foi desenvolvido, validado e aplicado um método de screening de EAA e seus principais produtos de biotransformação em DUS por PS-MS. O método validado em papel de filtro apresentou limites de detecção entre 2 e 15 ng/mL e estabilidade de 150 dias em temperatura ambiente para os dez analitos de interesse deste estudo. Além disso, foi possível fazer a reanálise das amostras após a secagem. Foram analisadas 50 amostras de usuários e não-usuários de EAA, sendo que 39 foram positivas para pelo menos um dos analitos testados. O método se demonstrou eficaz para o screening de esteroides anabólicos androgênicos em DUS por PS-MS, permitindo uma análise simples e rápida na luta antidopagem.

**PALAVRAS-CHAVE:** Esteroides anabólicos androgênicos. Paper spray. Dried urine spots. Ionização ambiente. Doping.

# **DETECTION OF ANABOLIC ANDROGENIC STEROIDS AND ITS BIOTRANSFORMATION PRODUCTS IN DRIED URINE SPOTS BY PAPER SPRAY-MASS SPECTROMETRY IONIZATION (PS-MS)**

## **ABSTRACT**

*Elite athletes and bodybuilders use anabolic androgenic steroids (AAS), as well as other ergogenic substances and stimulating drugs, in order to improve performance and increase muscle mass. AAS use in sport was banned by the International Olympic Committee in 1967, but it was only included in the list of prohibited substances in 1976, after the development of the radioimmunoassay technique, making possible the doping detection. These substances are used in therapeutics to treat several diseases. However, the non-therapeutic use has spread since the 1960s, as well as indiscriminate use by amateur athletes and bodybuilders for aesthetic purposes. The use of supraphysiological doses of anabolic androgenic steroids can cause several adverse effects such as psychiatric disorders, cardiomegaly, arrhythmia, stroke, heart attacks, paranoia, extreme irritability, depression, gynecomastia, baldness, amenorrhea and acne vulgaris. The abuse of AAS is notable, since they are the main drug of choice for doping, especially by male athletes in sports such as bodybuilding, athletics and cycling. Toxicological analysis allow to identify, detect and quantify these substances and their biotransformation products in different biological matrices, making it possible to track the use of prohibited drugs in sport. Therefore, it can prevent athletes from achieving competitive advantage. The use of alternative sampling methods has become popular, as they require low sample volume and can be stored at room temperature. Dried urine spots (DUS) is an easy, simple and fast technique that has the potential to be an alternative method for the detection of AAS. Paper spray-mass spectrometry ionization (PS-MS) was developed using alternative methods such as dried blood spots, similar to DUS, and allows faster analysis with high specificity and low detection limits. Thus, a screening method for AAS and their main biotransformation products in DUS by PS-MS was developed, validated and applied. The method was validated on filter paper and showed limits of detection between 2 and 15 ng/mL and stability of 150 days at room temperature for the ten analytes of interest in this study. In addition, it was possible to re-analyze the samples after drying. Fifty samples from users and non-users of AAS were analyzed and 39 were positive for at least one of the tested analytes. The method proved to be effective for the screening of AAS in DUS by PS-MS, allowing a simple and quick analysis in the anti-doping fight.*

**KEYWORDS:** *Anabolic androgenic steroids. Paper spray. Dried urine spots. Ambient ionization. Doping.*

LINHARES, A.L.F.A. Detecção de esteroides anabólicos androgênicos e seus produtos de biotransformação em dried urine spots por ionização por paper spray acoplada à espectrometria de massas (PS-MS). 2020. 142f. Dissertação (Mestrado em Farmácia – Fisiopatologia e Toxicologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Autora: Ana Luiza Freitas de Assis Linhares

Orientador: Maurício Yonamine

Data de defesa: 19 de junho de 2020