

Avaliação de formulações de agentes anabólicos apreendidos pela Polícia Federal em Pelotas, RS

LUCIANO SISCONETTO BORJA¹; LUCAS MORAES BERNEIRA¹; MARIANA PEREIRA AGUIAR¹; JEANIFER TEIXEIRA CAMACHO¹; LUAN FERREIRA PASSOS¹; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA²

¹Universidade Federal de Pelotas – lucianosisconetto@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os esteroides anabolizantes androgênicos (EAAs) são uma classe de substâncias químicas derivadas da testosterona os quais são largamente utilizados illicitamente para o aumento de massa muscular e de performance esportiva (COOPMAN, et al. 2012). Inicialmente, os agentes anabólicos surgiram para o tratamento de condições clínicas associadas ao hipogonadismo (BERNEIRA, et al. 2019). Todavia, devido ao extenso uso não-terapêutico e aos diversos efeitos adversos incluindo danos no fígado, corações e rins, as formulações contendo EAAs vem sendo proibidas ou controladas em vários países como, por exemplo, o Brasil, (NEVES, et al. 2013).

Embora haja um controle em sua distribuição, no Brasil, a apreensão de formulações contendo agentes anabólicos vem crescendo gradualmente nos últimos anos. Entre 2008 e 2011, por exemplo, houve um aumento de aproximadamente 200% no volume de apreensões pela Polícia Federal sendo cerca de 30% das formulações com algum tipo de falsificação (NEVES, et al. (2013). Uma vez apreendidos, os materiais devem ser quimicamente e visualmente avaliados a fim de determinar sua constituição química de forma que os resultados afetam diretamente os laudos periciais e, assim, o andamento de processos judiciais (FREITAS, et al. 2018).

A análise de formulações de EAAs compreende uma etapa inicial de extração do analito que geralmente ocorre utilizando metanol associado ao banho ultrassônico (THEVIS, et al. 2008). De uma forma geral, o material extraído é analisado por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas (CG-EM) reportado por NEVES; CALDAS (2017). No entanto, outras técnicas analíticas também podem ser utilizadas incluindo a Espectroscopia no Infravermelho, Calorimetria Exploratória Diferencial e testes colorimétricos, como exemplo reportados por KRUG, et al. (2014) e CHIONG et al. (1992).

Como exposto anteriormente, análises envolvendo formulações de agentes anabólicos vem aumentando nos últimos anos. Cabe também salientar o considerável grau de falsificação dessas amostras de forma que sua adequada identificação é indispensável no meio forense, hospitalar e judicial. Nesse sentido, objetivo deste trabalho foi de analisar formulações de EAAs apreendidos pela Polícia Federal em Pelotas (RS) através de inspeção visual, teste colorimétrico, Espectroscopia no Infravermelho e CG-EM.

2. METODOLOGIA

2.1 AMOSTRAGEM

As amostras de agentes anabólicos nas formas de cápsulas (Produto #1), solução oleosa (Produto #2) ou suspensão aquosa (Produto #3) foram apreendidas pela Polícia Federal em 2017 em Pelotas (RS). Todas as análises foram realizadas em triplicata ao passo que a quantificação dos analitos foi realizada através de uma curva analítica contendo colesterol.

2.2 INSPEÇÃO VISUAL

O recipiente e o rótulo das formulações foram avaliados seguindo o guia para a verificação de medicamentos falsificados da *World Health Professional's Alliance* (WHPA, 2011).

2.3 TESTE COLORIMÉTRICO

Foi utilizado o Teste do Ácido Sulfúrico em que a 50 μL ou 20 mg da amostra foi solubilizada em clorofórmio e, posteriormente, diluída em 1 mL de ácido sulfúrico concentrado e 1 mL de água destilada. Por fim, foi observado o desenvolvimento de coloração das amostras. O padrão de colesterol foi utilizado como controle positivo ao passo que também foi realizado um branco analítico (CHIONG, et al. 1992).

2.4 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Aproximadamente 25 μL ou 20 mg das amostras foram introduzidas em um espectrômetro e analisadas entre 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} .

2.5 CROMATOGRAFIA GASOSA-ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Uma alíquota de 25 μL ou 20 mg amostras foi homogeneizada em 5 mL de metanol e agitada em um vórtex por 10 s. Posteriormente, o material foi submetido ao banho ultrassônico por 10 min em temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$ com frequência de 40 Hz e 120 W de potência. Por fim, foram centrifugadas por 5 min e a fase orgânica foi injetada em um CG-EM.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na realização da inspeção visual dos produtos foram avaliadas as informações contidas nos rótulos e os seus respectivos recipientes, tais como o endereço do fabricante, holograma, nome comercial, forma farmacêutica e lote. Para o Produto #3, foi possível observar essas informações, no entanto a formulação foi caracterizada como falsificada visto que o nome comercial é inexistente e o laboratório fabricante não ter registro no Brasil. Foram vistas observações similares ao Produto #1 e #2 e, como o laboratório fabricante também não havia licença para distribuir as formulações no país, as amostras também foram consideradas falsificadas.

A análise colorimétrica das formulações de EAAs revelou uma grande variedade de cores nas amostras que podem ser atribuídas principalmente à presença das substâncias químicas ativas esteroidais, embora os excipientes também possam ter influenciado nos resultados. Para o Produto #1 se observou a formação de coloração avermelhada ao passo que para o Produto #2 se obteve a cor laranja e não foi observada formação de cor para o Produto #3. Estes resultados estão de acordo com indicações prévias da literatura (CHIONG et al., 1992). No entanto, em casos da presença de múltiplas substâncias químicas ativas nas preparações impediu a identificação dos agentes anabólicos de forma que a análise por outras técnicas analíticas se mostra necessária a fim de identificar adequadamente o material (BERNEIRA et al., 2019).

A Espectroscopia no Infravermelho possibilitou identificar bandas que deram indícios da presença ou ausência da substância química ativa descrita no rótulo. Para o Produto #1, foi possível indicar a presença do princípio ativo oximetolona através do grupo hidroxila (3523 e 3330 cm^{-1}) e carboxila (1613 cm^{-1}). No Produto #2, observou-se a ausência de grupos substituintes que pudessem diferenciar seus constituintes, mas foram observadas bandas que indicam insaturação, grupo carbonila e porções aromáticas que podem ser associadas a componentes de

óleo vegetal, substâncias químicas ativas esteroidais e outros possíveis veículos da formulação. No caso do Produto #3, não foram observadas bandas características da presença de estanozolol indicando sua ausência na formulação.

A análise cromatográfica do Produto #1 indicou a presença da substância química ativa oximetolona como indicado no rótulo. No entanto, a concentração obtida foi de 33.00 ± 0.43 mg/comprimido o que foi abaixo do indicado de 50 mg no rótulo. Por sua vez, o Produto #2 (**Figura 1**) era contido de ésteres de testosterona (propionato, isocaproato, caproato, decanoato e fenilpropionato de testosterona) cuja concentração total foi de 291.17 ± 7.22 mg.mL⁻¹ ao passo que o Produto #3 não continha a substância química ativa indicada. O consumo de EAAs em dosagens não terapêuticas pode acarretar vários efeitos adversos como, por exemplo, no fígado, coração, sistema nervoso e sistema reprodutivo (KICMAN, 2008).

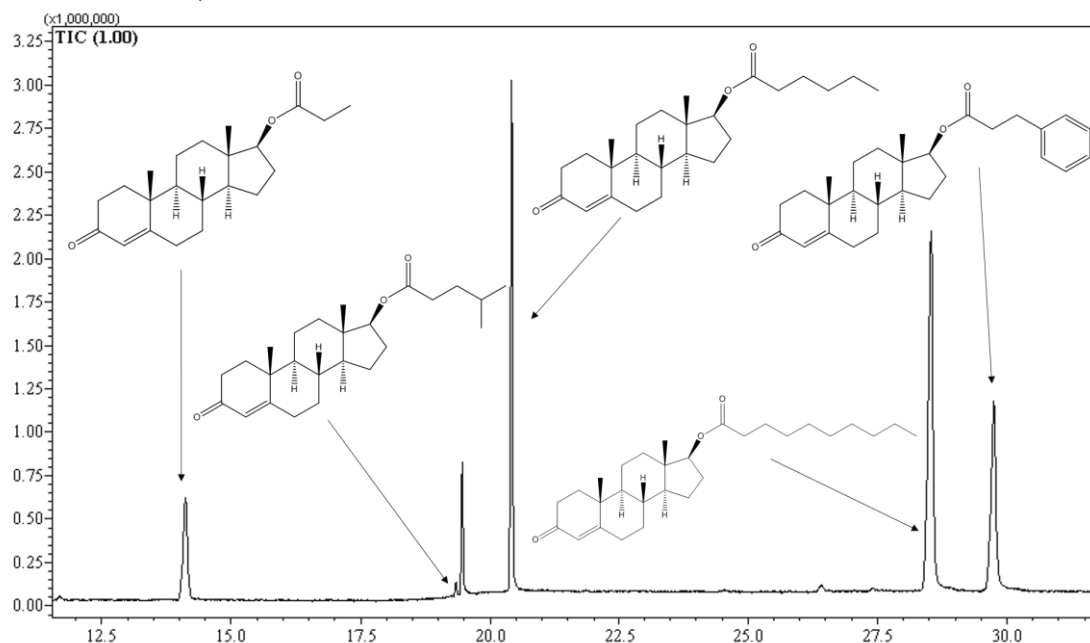


Figura 1. Resultado da análise por CG-EM do Produto #2.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, formulações farmacêuticas falsificadas compreendem produtos com rótulo incorreto bem como formulações com composições ou concentrações diferentes das alegadas no recipiente (BERNEIRA et al., 2019). Nesse contexto, se pode verificar que a análise cromatográfica permitiu confirmar a falsificação dos Produto #1 e #3 visto que a concentração alegada foi diferente da obtida durante a análise química. No caso do Produto #2, se pode verificar a presença dos analitos indicados no rótulo, porém não foi possível observar se as concentrações dos ésteres de testosterona estavam de acordo com o indicado visto que a concentração das substâncias químicas ativas não estava declarada no rótulo.

4. CONCLUSÕES

No presente estudo a inspeção visual, espectroscopia, cromatografia e espectrometria permitiram identificar sinais de falsificação em formulações de EAAs apreendidas pela Polícia Federal. Portanto, a aplicação de abordagens analíticas e um procedimento eficiente de extração foi necessário para fornecer resultados adequados em relação às formulações de agentes anabólicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Be aware. Tool for visual inspection of medicines. **Ferney Voltaire**: World health Professions Alliance
(http://www.whpa.org/Toolkit_BeAware_Inspection.pdf, accessed 01 September 2019).

BERNEIRA, L. M., FREITAS, S. C., SILVA, C. C., MACHADO, A., PEREIRA, C. M. P., SANTOS, M. A. Z. Application of differential scanning calorimetry in the analysis of apprehended formulations of anabolic androgenic steroids. **Forensic Science International**, v.296, p.15-21, 2019.

CHIONG, D. M., CONSUEGRA-RODRIGUEZ, E., ALMIRALL, J. R. The Analysis and Identification of Steroids. **J. Forensic Sci.**, 1992, 37, 13257J.

COOPMAN, V., CORDONNIER, J. C. V. Counterfeit drugs and pharmaceutical preparations seized from the black market among bodybuilders. **Ann. Toxicol. Anal.**, 2012, 24, 73–80.

FREITAS, S. C., SANTOS, M. A. Z., BERNEIRA, L. M., ORTIZ, R. S., PEREIRA, C. M. P. Microwave-assisted extraction and differential scanning calorimetry in the chemical identification of slimming agents apprehended in the south region of Brazil. **Sci. Justice**, 2018.

KICMAN, A. T. (2008). Pharmacology of anabolic steroids. **British Journal of Pharmacology**, 154(3), 502–521.

KRUG, O., THOMAS, A., WALPURGIS, K., PIPER, T., SIGMUND, G., SCHÄNZER, W., LAUSSMANN, T., THEVIS, M. Identification of black market products and potential doping agents in Germany 2010-2013. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, 2014, 70, 1303–1311

NEVES, D. B. J., MARCHETI, R. G. A., CALDAS, E. D. Incidence of anabolic steroid counterfeiting in Brazil. **Forensic Sci. Int.**, 2013, 228, e81–e83

SAJJADI, B., RAMAN, A. A. A., ARANDIYAN, H. A comprehensive review on properties of edible and non-edible vegetable oil-based biodiesel: Composition, specifications and prediction models. **Renew. Sustain. Energy Rev.**, 2016, 63, 62–92

THEVIS, M., SCHRADER, Y., THOMAS, A., SIGMUND, G., GEYER, H., SCHÄNZER, W. Analysis of confiscated black market drugs using chromatographic and mass spectrometric approaches. **J. Anal. Toxicol.**, 2008, 32, 232–240