

**AVALIAÇÃO DOS ANABOLIZANTES ESTEROIDAIIS A BASE DE
NANDROLONA APREENDIDOS PELA POLÍCIA FEDERAL DE FOZ DO IGUAÇU
– PR POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA A
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

FABÍOLA ZAT SCHUVIECERSKI

**AVALIAÇÃO DOS ANABOLIZANTES ESTEROIDAIIS A BASE DE
NANDROLONA APREENDIDOS PELA POLÍCIA FEDERAL DE FOZ DO IGUAÇU
– PR POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA A
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

FABÍOLA ZAT SCHUVIECERSKI

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Aline Theodoro Toci

Coorientador(a): Prof(a). Dr(a). Fernando Augusto de Freitas

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná

2022

FABÍOLA ZAT SCHUVIECERSKI

**AVALIAÇÃO DOS ANABOLIZANTES ESTEROIDAIIS A BASE DE
NANDROLONA APREENDIDOS PELA POLÍCIA FEDERAL DE FOZ DO IGUAÇU
– PR POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA A
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

BANCA EXAMINADORA

Dr(a). Aline Theodoro Toci
Orientador(a) UNILA

Dr(a). Cezar Rangel Pestana
Examinador(a) UNILA

Dr(a). Débora França de Andrade
Examinador(a) UFRJ

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná, 20 de dezembro de 2022.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

S396a

Schuviecerski, Fabíola Zat.

Avaliação dos anabolizantes esteroidais a base de Nandrolona apreendidos pela Polícia Federal de Foz do Iguaçu-PR por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas / Fabíola Zat Schuviecerski. - Foz do Iguaçu-PR, 2022.

68 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana. Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza. Programa de Pós-Graduação em Biociências. Foz do Iguaçu-PR, 2022.

Orientador: Aline Theodoro Toci.

Coorientador: Fernando Augusto de Freitas.

1. Nandrolona. 2. Anabolizantes oleosos. 3. Medicamentos - contrabando. 4. Cromatografia a gás. 5. Validação do método. I. Toci, Aline Theodoro. II. Freitas, Fernando Augusto de. III. Título.

CDU 543.544

Para meus amores, minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradecer à Deus, primeiramente pela oportunidade, pela saúde e por não me permitir desistir nos momentos difíceis.

Aos meus pais, João e Cleci, que estiveram em todo o momento me apoiando e dando suporte na minha vida para que eu conseguisse me dedicar às atividades do mestrado. Obrigada por toda torcida, apoio e admiração, por estarem sempre disponíveis para me ouvir e auxiliar quando precisei.

Agradeço ao meu marido, Juliano, pela compreensão e paciência, por não me abandonar e entender que era só mais uma etapa a ser cumprida. Por dar suporte e estar presente sempre que precisei.

Agradeço e dedico para o Henrique, o meu filho e amor da minha vida, simplesmente por existir e alegrar os meus dias, mesmo quando parecia ser impossível finalizar essa etapa, me trazendo forças e lembrando que sou exemplo.

Agradeço à Professora Aline, por me acolher de braços abertos e ter paciência para as infinitas correções e explicações. Por ser uma professora dedicada e aceitar o desafio da minha orientação. Serei grata sempre.

Ao Fernando, meu coorientador e colega, que com sua calma e sabedoria, me auxiliou em muitos momentos. Sempre com ânsia de ensinar e tornar o meu trabalho o melhor possível. Obrigada pela paciência.

À Maria Luiza, minha dupla de laboratório, aluna e amiga, que me ajudou a realizar todas as análises e tornou o trabalho mais prazeroso pelas nossas diversas conversas e desabafos.

Agradeço ao Erwin pela sua atenção e disposição em auxiliar aos alunos do Programa de Pós-Graduação sempre com tanta eficiência.

Agradeço à minha grande amiga Priscila, que me deu força e apoio para seguir, quando já pensava em desistir. Pois sempre duvidei da minha capacidade em terminar e ela foi responsável por colocar a professora Aline em minha trajetória.

Aos meus colegas e amigos, em especial, Carlos, Ivaneliza, Viviane por me ouvirem diversas vezes, me dar apoio em momentos difíceis e me incentivarem a finalizar o mestrado.

Aos meus queridos avós, *in memoriam*, Pedro e Zulmira, que me ensinaram desde de criança que o sucesso só pode ser construído pelo conhecimento. E que o ensino é a maior herança que pode ser deixada aos familiares. Espero ter honrado a trajetória de

vocês e dedico a eles esse trabalho, que sempre vibraram com todas as minhas conquistas.

Agradeço ao Programa de Auxílio à Integração ao Pesquisador da UNILA (Edital nº. 080/2019/PRPPG), bem como à Delegacia Regional de Polícia Federal de Foz do Iguaçu/PR em disponibilizar as amostras e as dependências do Laboratório para desenvolvimento desse estudo, como resultado do Acordo de Cooperação Técnica estabelecido com a Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA).

SCHUVIECERSKI, Fabíola Zat. 2022. **Avaliação dos anabolizantes esteroidais a de nandrolona apreendidos pela Polícia Federal de Foz do Iguaçu/PR por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas.** Orientadores: TOCI, Aline Theodoro (orientadora); FREITAS, Fernando Augusto de (coorientador). 68 f. Dissertação (Mestrado) - PPG-BC (Programa de Pós-Graduação em Biociências), UNILA (Universidade Federal da Integração Latino-Americana), Foz do Iguaçu.

RESUMO

Os anabolizantes são muitas vezes, utilizados por praticantes de esportes, tanto profissionais quanto amadores, com o intuito de melhorar a performance e o rendimento atlético, além de contribuir para o ganho rápido de massa muscular. A nandrolona é um anabolizante esteroidal, sendo produzido sinteticamente a partir da molécula da testosterona e possui potentes efeitos anabolizantes com baixo efeito androgênico. Com grande frequência, os anabolizantes são adquiridos de forma irregular ou ilegal e com procedência duvidosa, levantando suspeita sobre a qualidade desses produtos comercializados. Este trabalho teve como objetivo avaliar qualitativamente e quantitativamente os anabolizantes oleosos a base de ésteres de nandrolona apreendidos pelo Departamento de Polícia Federal de Foz do Iguaçu, PR. Para a quantificação foi realizada a validação de método com extração por solventes e análise por cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrometro de massas. Os parâmetros de validação foram seletividade, linearidade, homocedasticidade, efeito de matriz, limite de detecção, limite de quantificação, recuperação e precisão. Foram analisadas 40 amostras de anabolizantes descritos com nandrolona em seu rótulo 90 % das amostras analisadas apresentaram o princípio ativo, enquanto 10% não possuíam o princípio declarado, e que dentro das amostras com princípio ativo de acordo com o rótulo, porém 67,5% dessas possuíam concentrações abaixo do indicado, representando produtos de baixa qualidade e que podem oferecer risco ao consumidor. Os resultados corroboram à importância do controle de comercialização, com o intuito de inibir o consumo dos medicamentos falsificados que podem causar sérios danos à saúde dos usuários.

Palavras-chave: nandrolona; anabolizantes oleosos; medicamentos contrabandeados; CG-EM; validação do método.

SCHUVIECERSKI, Fabíola Zat. 2022. ***Evaluación de anabólicos esteroides a base de nandrolona incautados por la Policía Federal de Foz do Iguazú/PR mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa*** Asesores: TOCI, Aline Theodoro (asesor); FREITAS, Fernando Augusto de (co-asesor). 68 h. *Disertación (Maestría) - PPG-BC (Programa de Postgrado en Biociencias), UNILA (Universidad Federal de la Integración Latinoamericana), Foz do Iguazú.*

RESUMEN

Los anabolizantes son muchas veces, utilizados por practicantes de deportes, tanto profesionales como los aficionados, con el propósito de mejorar el performance y el rendimiento atlético, además de contribuir para la gana rápida de masa muscular. La nandrolona es un anabólico esteroidal, siendo producido sintéticamente desde la molécula de la testosterona y posee potentes efectos anabolizantes con bajo efecto androgénico. Con gran frecuencia, los anabolizantes son adquiridos de manera irregular o ilegal y de dudosa procedencia, dando pie para sospecha sobre la calidad de estos productos comercializados. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar cualitativamente y cuantitativamente los anabolizantes oleosos de base de ésteres de nandrolona incautados por el Departamento de Policía Federal de Foz do Iguazú, PR. Para la cuantificación fue realizada la validación de método con extracción por solventes y análisis por cromatografía en etapa gaseosa acoplada al espectrómetro de masas. Los parámetros de validación fueron selectividad, linealidad, homocedasticidad, efecto de matriz, límite de detección, límite de cuantificado, recuperación y precisión. Fueron analizadas 40 muestras de anabolizantes descritos con nandrolona en su etiqueta. 90% de las muestras analizadas presentaron el principio activo, mientras que el 10% no contaba con el principio enunciado, pero 67,5% de ellas poseían concentraciones abajo de lo indicado, representando productos de baja calidad y que pueden ofrecer riesgo al consumidor. Los resultados corroboran a la importancia del control de comercialización, con la intención de inhibir el consumo de los medicamentos falsificados que pueden causar serios daños a la salud de los usuarios.

Palabras clave: *nandrolona; anabolizantes oleosos; medicamentos contrabandeados; CG-MS; validación del método.*

SCHUVIECERSKI, Fabíola *Zat. 2022. Evaluation of nandrolone-based steroids seized by the Federal Police of Foz do Iguaçu/PR by gas chromatography coupled to mass spectrometry.* Advisors: TOCI, Aline Theodoro (advisor); FREITAS, Fernando Augusto de (co-advisor). 68 s. Master's thesis (Master's degree) - PPG-BC (Graduate Program in Biosciences), UNILA (Federal University of Latin American Integration), Foz do Iguaçu.

ABSTRACT

Anabolic steroids are often consumed by both amateur and professional sports practitioners with the aim of improving their performance and for the rapid gain of muscle mass. Nandrolone is an anabolic steroid that is synthetically produced from the testosterone molecule, and which has powerful anabolic effects with low androgenic effects. Most often, anabolic steroids are acquired illegally and from dubious commercial origin, and this raises serious concerns regarding the quality of the products. This work sought to qualitatively and quantitatively evaluate oily, nandrolone-based anabolic steroids confiscated by the Foz do Iguaçu Federal Police Department, Paraná, Brazil. For the quantitative study, we conducted a methodological validation analysis based on the application of solvent extraction and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The validation parameters that were investigated included the following: selectivity, linearity, homoscedasticity, matrix effect, limit of detection, limit of quantification, recovery rate, and precision. A total of 40 samples of nandrolone-based anabolic steroids (as described on the label) were thoroughly investigated. The results obtained showed that 90% of the samples analyzed contained the active ingredient, while 10% did not have the stated principle, but 67,5% of these samples exhibited concentrations below the values indicated on the label; these products are thus considered to be of low quality and their consumption may pose serious risks to the consumers. The findings of this study point to the importance of enforcing regulatory controls on the sale of anabolic steroids with a view to inhibiting the consumption of counterfeit drugs that can pose serious risks to the health of consumers.

Keywords: *nandrolone; oily anabolic steroids; smuggled drugs; GC-MS, analytical method validation.*

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclopentanoperhidrofenantreno.....	17
Figura 2. Locais comuns de alterações químicas da molécula de testosterona.....	18
Figura 3. Modificações da relação da atividade anabólica-androgênica de derivados da testosterona.....	19

ÍNDICE DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1. Exemplos de amostras apreendidas contendo nandrolona em seu rótulo. .	36
Fotografia 2. Amostras para preparo do “pool” para avaliação do Efeito de Matriz.....	41

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Espectro de massas dos íons da molécula de nandrolona extraído da biblioteca NIST (2014).....	44
Gráfico 2. Comparação das inclinações das retas obtidas das curvas analíticas em solvente e em matriz.....	45
Gráfico 3. Gráfico de dispersão de resíduos.....	46
Gráfico 4. Avaliação qualitativa das amostras de anabolizantes.....	49
Gráfico 5. Concentração medida e esperada dos anabolizantes a base de ésteres de nandrolona apreendidos no período de 2019 a 2020 pela PF na cidade de Foz do Iguaçu, com evidência para produtos com concentrações aproximadamente ou inferior a 50% da concentração declarada.....	50

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Nome popular e oficial, fórmula molecular e estrutura química dos principais anabolizantes esteroidais comercializados.....	21
Tabela 2. Tempo de retenção e íons monitorados da sibutramina e decanoato de nandrolona.....	42
Tabela 3. Parâmetros de validação do método por CG-EM.....	43
Tabela 4. Teores de nandrolona descritos nos rótulos e dosados nas amostras de anabolizantes à base de ésteres de nandrolona apreendidos na cidade de Foz do Iguaçu/PR (Brasil).....	47
Tabela 5. Estudos publicados sobre avaliação de anabolizantes contrabandeados e falsificados.....	52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1. Referencial teórico.....	16
1.1.1. <i>Os anabolizantes esteroidais.....</i>	<i>16</i>
1.1.2. <i>Os efeitos fisiológicos dos anabolizantes esteroidais.....</i>	<i>25</i>
1.1.3. <i>As reações adversas no uso abusivo dos anabolizantes esteroidais.....</i>	<i>26</i>
1.1.4. <i>O uso abusivo de anabolizantes no Brasil e no Mundo.....</i>	<i>27</i>
1.2. Justificativa.....	33
1.3. Pergunta norteadora.....	34
1.4. Hipótese.....	34
2. OBJETIVOS.....	35
2.1. Geral.....	35
2.2. Específicos.....	35
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1. Amostras.....	36
3.2. Preparo das amostras.....	37
3.3. Validação do método.....	37
3.4. Curva analítica.....	37
3.5. Linearidade.....	38
3.6. Limite de detecção e limite de quantificação.....	38
3.7. Seletividade.....	39
3.8. Recuperação.....	39
3.9. Precisão.....	40
3.10. Efeito matriz.....	40
3.11. Análise cromatográfica.....	41
3.12. Análise estatística dos dados.....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1. Seletividade e efeito de matriz.....	44
4.2. Linearidade e homocedasticidade.....	45
4.3. Determinação de limite de detecção e limite de quantificação.....	46
4.4. Determinação da precisão e exatidão.....	48
4.5. Avaliação das amostras.....	48
5. CONCLUSÃO.....	55
6. REFERÊNCIAS.....	56

APÊNDICES.....	67
Apêndice A – Dados da Curva Analítica.....	67
Apêndice B – Cromatograma de amostras.....	68

1. INTRODUÇÃO

Os anabolizantes ou hormônios esteroides anabólicos-androgênicos, conhecidos pela sigla AAS em inglês (abreviação de *anabolic androgenic steroids*), são medicamentos produzidos sinteticamente a partir da molécula de testosterona. Esses buscam potencializar os efeitos anabólicos do organismo, relacionado ao aumento da massa muscular e força física e, também, diminuir os efeitos androgênicos não desejáveis, conhecidos como características sexuais masculinas, evidenciadas pelo crescimento e desenvolvimentos de barba, pelos púbicos e axilares; espessamento das cordas vocais; aumento da atividade das glândulas sebáceas e espessamento da pele, e. São utilizados por indicação médica para o tratamento de vários problemas de saúde, como hipogonadismo secundário, anemia refratária, câncer de mama, angioedema hereditário, osteoporose, baixa estatura, entre outros, porém são considerados as maiores drogas de abuso utilizadas por atletas, como forma de aprimorar a resposta muscular ou rendimento atlético (CUNHA *et al.*, 2004; KAHAL *et al.*, 2020).

A aplicação de esteroides nas competições de fisiculturismo tornou-se uma prática comum, e durante muito tempo foi realizada de forma supervisionada por médicos. No entanto, após 1990, com a Lei de Controle de Esteroides, que posteriormente foi reforçada pela Lei de Controle de Esteroides Anabólicos em 2004, houve uma mudança no cenário e abriu a possibilidade do comércio ilegal e da falsificação dessas substâncias (PATANÈ *et al.*, 2020). Uma preocupação existente está nos medicamentos fabricados e comercializados com a evidência de serem ilegais, conhecidos com *undergrounds*, são anabolizantes que possuem um mercado próprio, com domínios na internet e redes sociais, facilitando o seu acesso (ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PERITOS CRIMINAIS FEDERAIS, 2019). Além do uso por atletas, é conhecido também que os anabolizantes são procurados pelo público jovem, diretamente relacionado ao aprimoramento do rendimento físico e muscular de frequentadores de academia, como também na melhora da aparência de jovens adultos e adolescentes, pelos estereótipos estabelecidos pela mídia. Na maioria das vezes, são adultos do sexo masculino com idade entre 20 a 30 anos (ALTHOBITI *et al.*, 2018).

O uso de anabolizantes de forma ilícita é considerado um problema grave e de grande incidência, sendo considerado um problema de saúde mundial, chamando a atenção de autoridades de saúde. Com a falta de qualidade e segurança, os usuários correm risco de saúde, desde lesões à morte (FRUDE; MCKAY; DUNN, 2020). A maioria dos

anabolizantes provenientes do comércio ilegal possuem uma variabilidade quanto à sua composição, apresentando divergências na sua pureza e qualidade, não garantindo os padrões adequados da substância ativa, além de possuir contaminantes não descritos no rótulo. O comércio *online* desses produtos vem impulsionando essa problemática (AMES; SOUZA, 2012).

Além disso, o consumo de produtos falsificados possui uma relação com o crime organizado, pelo envolvimento de criminosos que atuam de qualquer forma e área para garantir o lucro (UNODC, 2019). Essa prática é impulsionada, muitas vezes, pela busca de valores mais baixos de tratamentos, pela compra em locais não regulamentados, além de buscar a facilidade de compra pelo comércio *online*, e a crescente venda internacional de produtos farmacêuticos (FRUDE; MCKAY; DUNN, 2020).

A falsificação de medicamentos, bem como sua comercialização envolve um grande mercado econômico, em valores próximos de 75 bilhões de dólares. Sendo os anabolizantes um dos principais medicamentos vendidos ilegalmente (DÉGARDIN; ROGGO; MARGOT, 2014). A primeira menção dos medicamentos falsificados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), foi em 1985 no Quênia, e atualmente, estima-se que 1% dos medicamentos vendidos em países desenvolvidos são medicamentos falsificados. Porém há um aumento de 30% quando se fala de algumas regiões da Ásia, Europa Oriental, África e América Latina (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

Com o objetivo de prevenir, detectar e resolver os problemas de falsificação de medicamentos e vendas ilegais, a OMS estabeleceu em 2012 o *Member State Mechanism on Substandard and Falsified Medical Products* (Mecanismo dos Estados-Membros sobre Produtos Médicos de Qualidade Inferior e Falsificados) como um fórum global dos Estados membros para coordenar, tomar decisões e organizar atividades relacionadas à qualidade de medicamentos comercializados, do qual o Brasil faz parte (UNODC, 2019).

Cumprindo as obrigações estabelecidas, em 2018 e 2019, o Brasil foi responsável por promover materiais de treinamento e orientações direcionadas para a prevenção e detecção para órgãos reguladores. Nessa determinação cabe à Colômbia ser responsável por liderar estratégias para controle da distribuição e fornecimento desses produtos pela internet (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

Entre os anos 2008 a 2010, houve um total de apreensões que somaram um valor de 22 milhões de reais em medicamentos falsos, sendo os medicamentos para disfunção erétil e anabolizantes os itens encontrados com maior prevalência nas intercorrências, juntamente com medicamentos para emagrecer e tratamento do câncer (AMES; SOUZA,

2012). O estado do Paraná é considerado um problema em relação ao contrabando de produtos devido à fronteira com o Paraguai, ocupando 20% das denúncias registradas (NEVES; MARCHETI; CALDAS, 2013). Em uma única operação em dezembro de 2021 na região próxima à capital paranaense, segundo publicação do Governo Federal, foram apreendidos R\$ 1,1 milhões de produtos provenientes do Paraguai, contendo 36 mil ampolas de anabolizantes (BRASIL, 2021a).

Para melhorar o controle dessa situação, em 2021, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), juntamente com o Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD), elaborou um projeto piloto com o objetivo de monitorar a comercialização de produtos online e reduzir as irregularidades nesse setor. E já trouxe alguns resultados pela captação dos chamados “sinais”, totalizando um milhão de focos de monitoramentos entre dezembro de 2021 a início de fevereiro de 2022, que resultaram em dezessete mil ameaças e dez mil possíveis irregularidades (BRASIL, 2022).

Na tentativa de obter melhor rastreabilidade e conseqüentemente aprimorar a identificação de produtos falsificados, a ANVISA em 2021, publicou a Instrução Normativa (IN) nº 108 de 25 de Novembro de 2021, que estabelece prazo para a serialização dos medicamentos de acordo com a lista de inclusão publicada pelo Governo em agosto do mesmo ano, na qual estabelece os medicamentos sujeitos ao Sistema Nacional de Controle de Medicamentos, entre eles os anabolizantes, o que tornará possível a verificação da autenticidade dos produtos comercializados, garantido que o medicamento é seguro para uso (BRASIL, 2021b).

Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade dos anabolizantes a base de nandrolona apreendidos pela Polícia Federal entre o período de 2019 a 2022, por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, a partir da validação do método utilizado.

1.1. Referencial teórico

1.1.1. Os anabolizantes esteroidais

Os anabolizantes são utilizados há mais de 50 anos na medicina, porém o primeiro relato de seu uso com a finalidade de melhorar o desempenho atlético ocorreu em 1954, em uma competição de levantamento de peso em Viena. Desde a década de 1980, o uso de substâncias classificadas como anabolizantes está aumentando cada vez mais, na busca por uma melhor aparência física e do desempenho atlético (CUNHA *et al.*, 2004).

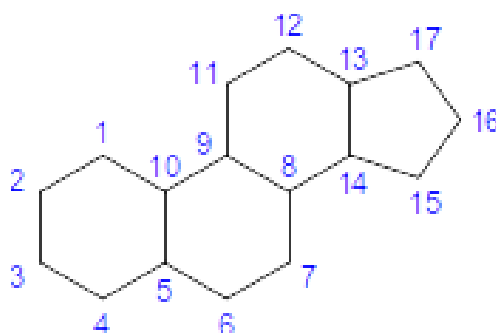
No entanto, principalmente por esse uso ser não profissional e por aquisição ilegal de consumo, é difícil estimar o valor real de aumento de consumo (UNODC, 2019).

Os anabolizantes esteroidais compreendem o uso da testosterona e de seus derivados e, apesar de reproduzirem os efeitos positivos do hormônio masculino, dando ao usuário um aumento de confiança e da força, possuem efeitos diretos e indiretos sobre o humor do usuário. Além disso, outros efeitos colaterais estão associados, como por exemplo, ao desenvolvimento de tumores hepáticos, derrames, ataques cardíacos precoces, insuficiência renal e problemas psiquiátrico. Possuem também efeito sobre a função sexual, e podem causar como efeitos maléficos danos cardiovasculares e hepáticos, acne e calvície (CUNHA *et al.*, 2004; KICMAN; GOWER, 2003).

A testosterona foi extraída pela primeira vez em 1889, por Brown-Séquard, a partir de testículos de cães e porcos, e teve suas primeiras atividades descritas após o médico aplicar em si mesmo e relatar em sua publicação aumento de força, vigor físico e mental (BROWN-SÉQUARD, 1889). Os experimentos de Séquard abriram caminho para muitos estudos sobre as glândulas endócrinas e suas secreções, mas apenas em 1935 foi possível isolar o hormônio sexual masculino, recebendo o nome de testosterona. No mesmo ano, a indústria farmacêutica produziu artificialmente o hormônio sexual masculino (FREEMAN; BLOOM; MCGUIRE, 2001).

Os medicamentos esteroidais são derivados sintéticos da testosterona. Muitas modificações na estrutura química da testosterona na produção dos análogos sintéticos já foram realizadas com o objetivo de trazer melhor resposta terapêutica e diminuição dos efeitos colaterais (NATIONAL INSTITUTE ON DRUG ABUSE, 2018). Os compostos esteroidais podem ser reconhecidos com facilidade pela presença de uma estrutura de ciclopentanoperhidrofenantreno (Figura 1), um núcleo de quatro anéis de carbono fundidos.

Figura 1. Ciclopentanoperhidrofenantreno

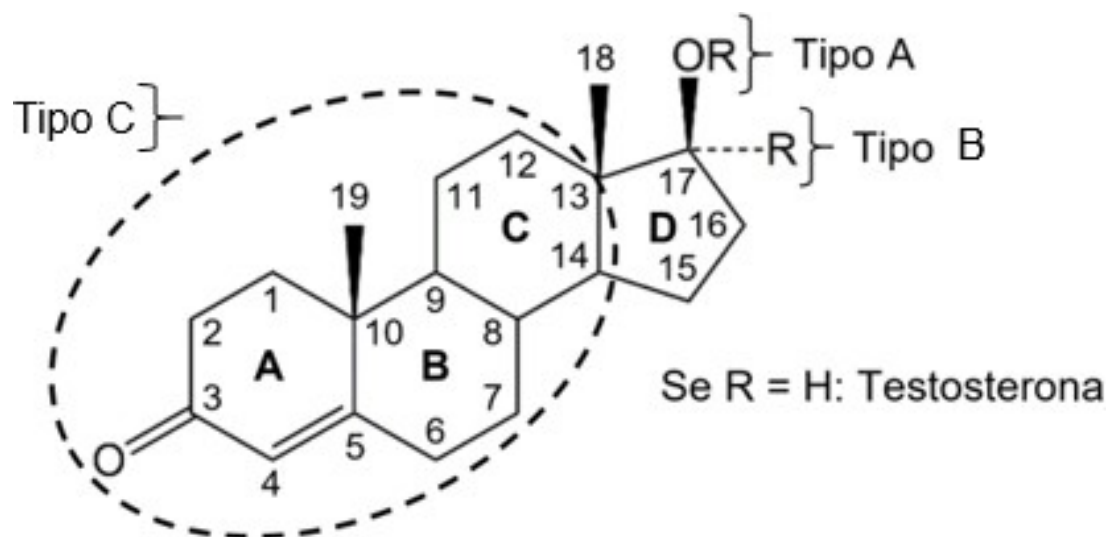


Fonte: dos autores, 2022.

Com o intuito de melhorar a atividade do hormônio, as modificações na estrutura da testosterona ocasionam diferentes respostas biológicas. Descritas por Kicman & Gower, 2003, é possível obter aumento da potência anabólica e redução dos resultados androgênicos pelas diversas modificações no anel A (Figura 2). Enquanto a inserção de um grupo metil ou etil no Carbono 17, produz uma estabilidade ao metabolismo de primeira passagem hepático, proporcionando atividade oral ao produto (Figura 1). A atividade oral ao esteroide também pode ser conferida pela ligação de um grupo metil no Carbono 1 (Figura 1).

Existem 03 modificações consideradas úteis na molécula de testosterona, que envolvem (Figura 2): esterificação do grupo hidroxila 17- β ; alquilação na posição 17- α e a modificação na estrutura do anel esteroidal, em particular, a substituição nos Carbonos 1, 2, 9 ou 11 (WILSON, 1988). Sendo assim, muitos anabolizantes são produzidos a partir das modificações feitas no grupamento hidroxila do carbono 17 (grupo 17 β -hidroxila) que são conhecidas como esterificações ou modificações tipo A, enquanto as reações de alquilação no carbono da posição 17 α são chamadas de modificações tipo B (SHAHIDI, 2001).

Figura 2. Locais comuns de alterações químicas da molécula de testosterona



Fonte: Baseado em Fragkaki *et al.* (2009).

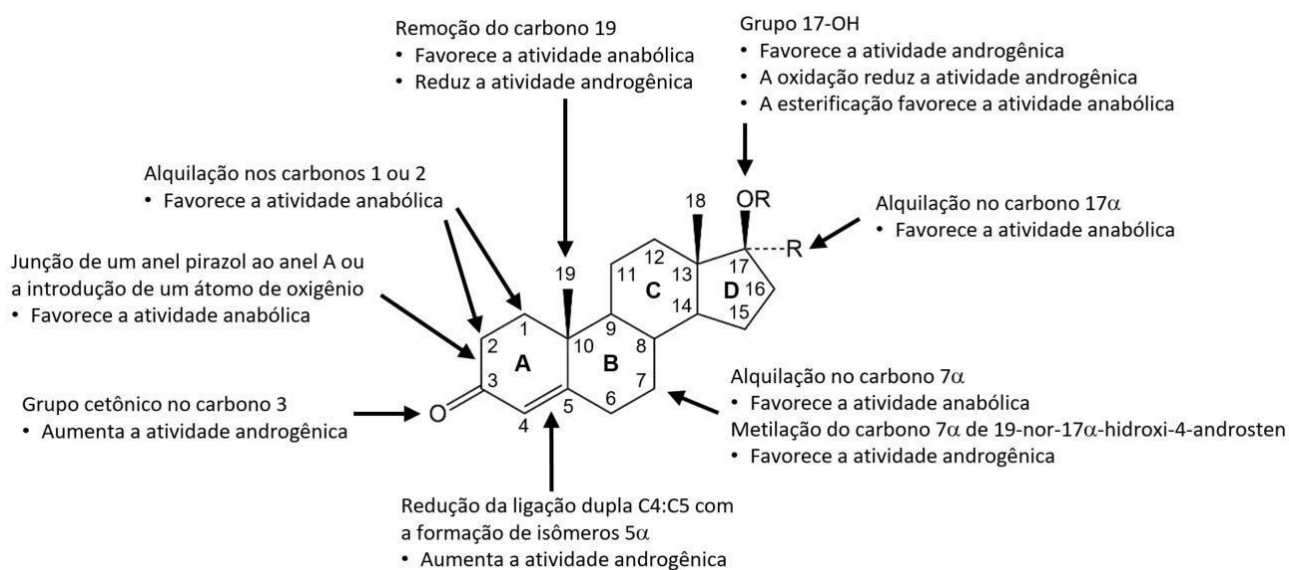
A modificação em um dos anéis A, B e C da testosterona, que recebe o nome de modificações tipo C, possuem a propriedade de alterar a farmacocinética, pela interferência na metabolização do hormônio, retardando-a. A modificação do tipo C também tem efeito

aprimorando a farmacodinâmica pelo aumento da afinidade com os receptores androgênicos e tornando o composto resistente ao processo de aromatização da molécula, oferecendo menor risco de produção de estradiol (condição associada aos efeitos feminilizantes, que pode ter como consequência a ginecomastia). As modificações do tipo C produzem compostos como: mesterolona, nandronolona, boldenona, estanozolol, drostanolona, trembolona, danazol, nortandrolona, metenolona (KICMAN, 2008).

Segundo apresentado por Fragkaki e colaboradores (2009), as relações da atividade anabolizante-androgênica dos derivados da testosterona podem ser apresentadas de acordo com as modificações realizadas na estrutura, conforme ilustrado na figura 3. Como citam os autores, pode-se dizer que o aumento da atividade anabolizante pode ser proporcionado pelas seguintes alterações:

- esterificação do grupo Hidroxila no Carbono 17;
- remoção do Carbono 19;
- junção de um anel pirazol ao anel A da ou introdução de um átomo de oxigênio no mesmo local;
- alquilação nos Carbonos 1 e 2;
- alquilação do Carbono 17 na posição α ; e
- alquilação do Carbono 7 na posição α .

Figura 3. Modificações da relação da atividade anabólica-androgênica de derivados da testosterona



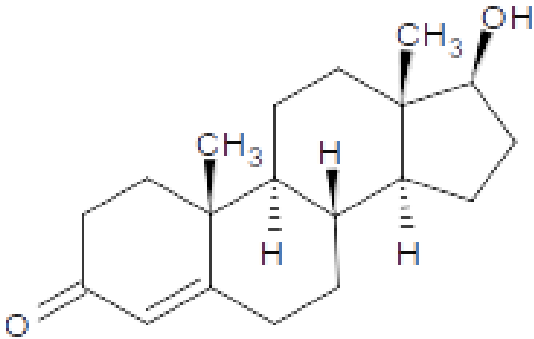
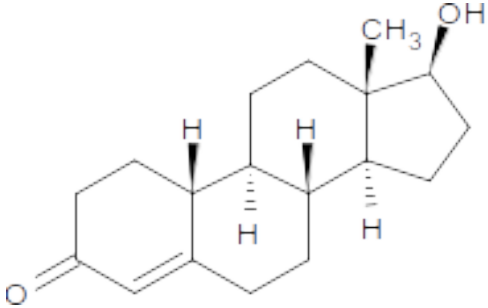
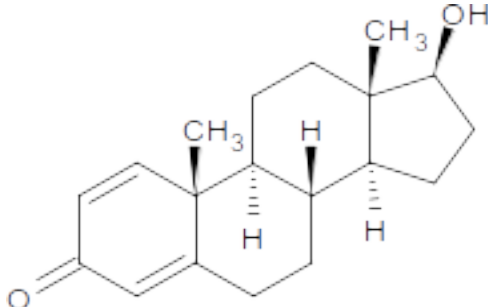
Fonte: Baseado em Fragkaki *et al.* (2009).

Já a respeito da atividade androgênica, as modificações na molécula podem produzir um aumento ou redução desse efeito, podendo ser exemplificado da seguinte maneira:

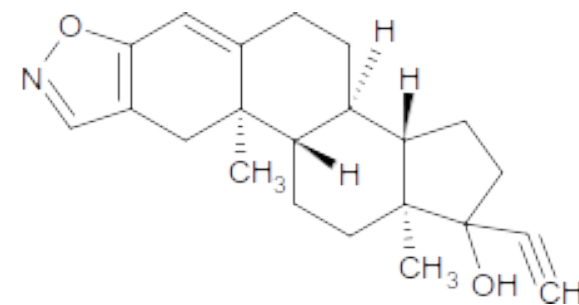
- aumento da atividade androgênica: obtida a partir da formação de isômeros 5 α obtidos pela redução da ligação dupla entre os Carbonos 4 e 5; inserção de grupo cetônico no Carbono 3 e metilação no Carbono 7 α em 19-nor-17 α -hidroxi-4-androsten;
- redução da atividade androgênica: obtida a partir da oxidação do grupo hidroxila no Carbono 17 ou pela remoção do Carbono 19.

Os diversos anabolizantes comercializados diferem quanto a composição e formulações. Um exemplo se dá quanto à testosterona que pode se apresentar sob diversas formas farmacêuticas, o que modifica a farmacocinética da substância, ou as esterificações no grupo α que produzem compostos como danazol, estanozolol, fluoximesterona, oxandrolona e nortandrolona, utilizados por via oral (KICMAN, 2008). A tabela 1, apresenta os principais compostos anabolizantes comercializados, com suas estruturas químicas.

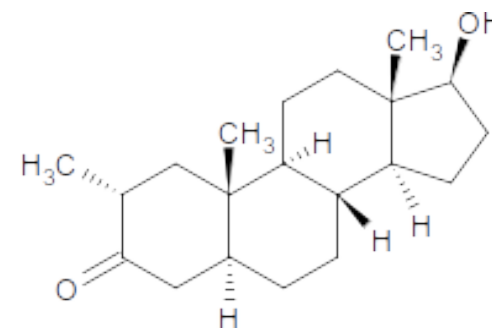
Tabela 1. Nome popular e oficial, fórmula molecular e estrutura química dos principais anabolizantes esteroidais comercializados

Nome Popular	Nome IUPAC	Fórmula Molecular	Estrutura
Testosterona	8R,9S,10R, 13S,14S,17S -17-hidroxi-10,13- 1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17- dodecahidrociclopenta[a]fenantren-3-ona	dimetil- C ₁₉ H ₂₈ O ₂	
19-Nortestosterona (Nandrolona)	8R,9S,10R,13S,14S,17S-17-hydroxy-13-methyl- 2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H- cyclopenta[a]phenanthren-3-one	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	
Boldenona	8R,9S,10R,13S,14S,17S-17-hydroxy-10,13- 6,7,8,9,11,12,14,15,16,17- decahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one	dimethyl- C ₁₉ H ₂₆ O ₂	

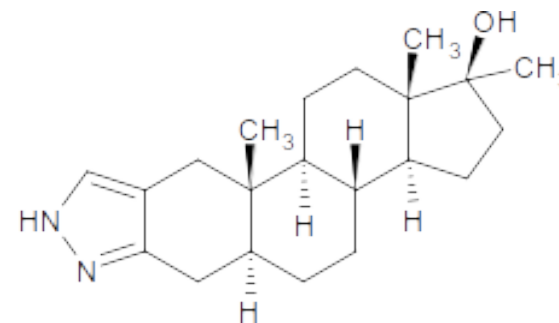
Danazol 1R,3aS,3bR,10aR,10bS,12aS-1-Ethynyl-10a,12a-dimethyl
2,3,3a,3b,4,5,10,10a,10b,11,12,12a- dodecahydro-1H-
cyclopenta[7,8]phenanthro[3,2-d] [1,2]oxazol-1-ol C₂₂H₂₇NO₂



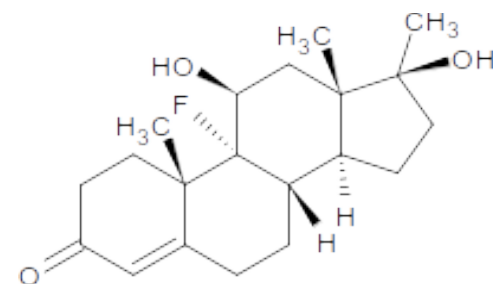
Drostanolona 2R,5S,8R,9S,10S,13S,14S,17S-17-hydroxy-2,10,13-
trimethyl- 1,2,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-
tetradecahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one C₂₀H₃₂O₂



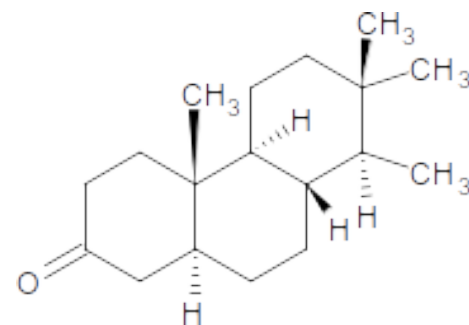
Estanozolol 1S,3aS,3bR,5aS,10aS,10bS,12aS-1,10a,12a-Trimethyl-
1,2,3,3a,3b,4,5,5a,6,7,10,10a,10b,11,12,12a-
hexadecahydrocyclopenta[5,6]naphtho[1,2- f]indazol-1-ol C₂₁H₃₂N₂O



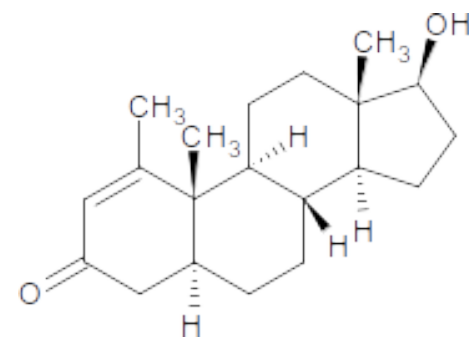
Fluoximesterona (8*S*,9*R*,10*S*,11*S*,13*S*,14*S*,17*S*)-9-fluoro-11,17-dihydroxy-10,13,17-trimethyl-1,2,6,7,8,11,12,14,15,16-decahydrocyclopenta[*a*]phenanthren-3-one C₂₀H₂₉FO₃



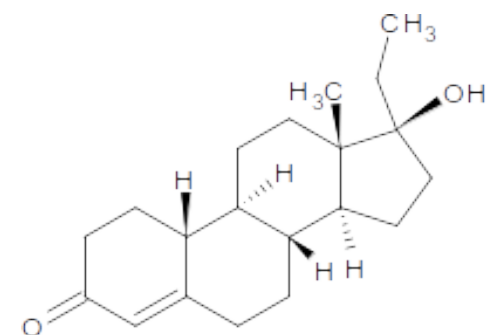
Mesterolona 1*S*,5*S*,8*R*,9*S*,10*S*,13*S*,14*S*,17*S*-17-hydroxy-1,10,13-trimethyl-1,2,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydrocyclopenta[*a*]phenanthren-3-one C₂₀H₃₂O₂



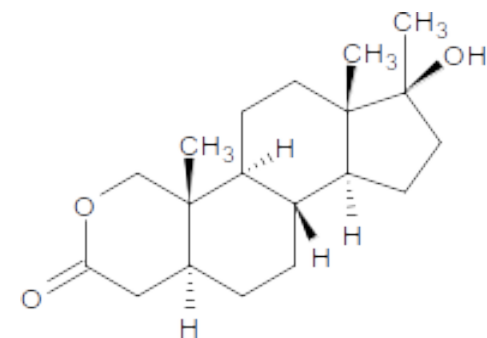
Metenolona 5*S*,8*R*,9*S*,10*S*,13*S*,14*S*,17*S*-17-hydroxy-1,10,13-trimethyl-4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopenta[*a*]phenanthren-3-one C₂₀H₃₀O₂



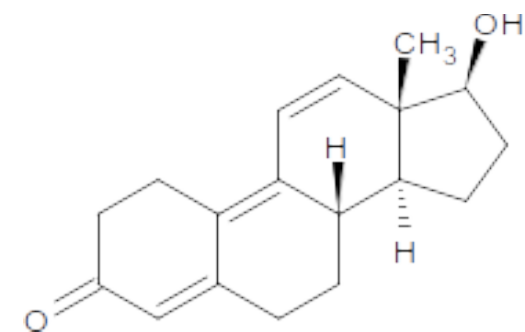
Nortandrolona 8*R*,9*S*,10*R*,13*S*,14*S*,17*S*-17-ethyl-17-hydroxy-13-methyl-1,2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16-dodecahydrocyclopenta[*a*]phenanthren-3-one C₂₀H₃₀O₂



Oxandrolona 1*S*,3*aS*,3*bR*,5*aS*,9*aS*,9*bS*,11*aS*-1-hydroxy-trimethyl-2,3,3*a*,3*b*,4,5,5*a*,6,9,9*b*,10,11-dodecahydroindeno[4,5-*h*]isochromen-7-one 1,9*a*,11*a*- C₁₉H₃₀O₃



Trembolona 8*S*,13*S*,14*S*,17*S*-17-hydroxy-13-methyl-2,6,7,8,14,15,16,17-octahydro-1*H*-cyclopenta[*a*]phenanthren-3-one C₁₈H₂₂O₂



1.1.2. Os efeitos fisiológicos dos anabolizantes esteroidais

A testosterona possui como efeito no organismo o desenvolvimento das características secundárias masculinas e maturação do esperma; está ligada ao incremento da produção de proteínas, consequentemente aumentando a produção de massa muscular e de células vermelhas, o que está ligado diretamente a melhor recuperação após exercícios, ferimentos e doenças, sem contar que a biossíntese de proteínas produz um aumento no metabolismo e, consequente, maior queima de gordura. Além dessas respostas, a testosterona possui efeito regulador sobre sua própria produção (SCHWINGEL *et al.*, 2015).

O uso medicinal da testosterona é principalmente indicado em casos de hipogonadismo masculino, no tratamento de câncer de mama dependente de estrogênio em mulheres, como auxiliar na reposição hormonal em pacientes mulheres na menopausa e como terapia de reposição hormonal de testosterona em homens, pela administração por via injetável intramuscular, principalmente (TAUCHEN *et al.*, 2021). Quando administrado por via oral, esse hormônio rapidamente passa pela metabolização hepática sendo inativado, o que justifica a grande presença de formulações injetáveis dessa substância (SILVA; DANIELSKI; CZEPIELEWSKI, 2002).

Pelo seu efeito antagonista sobre os receptores androgênicos, com efeitos variáveis entre indivíduos e meia-vida de 10-100 minutos, a testosterona é considerada a chave de doenças como a obesidade. Justamente por seu efeito anabólico, existe uma grande relação dos seus baixos níveis e aumento do índice corpóreo de gordura, podendo ser utilizada na forma de reposição, quando existe a sua deficiência, ou nas terapias de redução da obesidade (KELLY; JONES, 2015).

A nandrolona é um análogo sintético da testosterona, encabeçando a lista dos anabolizantes mais utilizados. Foi primeiramente sintetizada em 1950, apresenta-se nas formulações a forma de ésteres como decanoato e fenilpropionato. É utilizada na forma intramuscular injetável e apresenta semelhança na metabólica com a testosterona, sendo convertido pela α -5-redutase em 3-norandrosterona, no entanto, esse metabólito formado, diferente do DHT produzido a partir do metabolismo da testosterona, possui menor afinidade com os receptores andrógenos, o que justifica a aplicação de nandrolona em diversos estudos em distúrbios como anemias e desgaste muscular relacionado à hemodiálise (WU; KOVAC, 2016).

Suas características demonstram que possui atividade anabólica superior quando

comparado à testosterona, e ainda menor efeito androgênico. Sua ação sobre os receptores andrógenos cerebrais representam uma importante relação com a euforia e aumento da agressividade. E na controvérsia, está relacionado ao aumento da massa óssea como benefício no tratamento da osteoporose (OLIVEIRA; IBANEZ, 2020).

A aplicação não medicinal dos anabolizantes esteroidais é feita por meio de programações de diversos padrões com a finalidade de atingir as metas traçadas por atletas para obter o melhor rendimento físico e esportivo, ou até mesmo modificar a composição corporal de amadores. Dessa forma, são utilizadas doses imensamente maiores do que as recomendações farmacológicas. Os padrões de uso de anabolizantes podem ser classificados em: ciclos – quando ocorre a aplicação de diversas doses com intervalos programados entre eles; por empilhamento – pela combinação de dois ou mais anabolizantes diferentes; pirâmide – na qual ocorre o aumento gradativo das doses do esteroide; e por último, o platô – pelo escalonamento dos diferentes anabolizantes e mudanças de doses a fim de evitar o desenvolvimento de tolerância (EVANS, 2004; WILSON, 1988).

1.1.3. As reações adversas no uso abusivo dos anabolizantes esteroidais

O uso sem prescrição ou indicação médica dos anabolizantes é responsável por lesões graves e crônicas, ou até morte súbita pelos jovens praticantes de musculação (BEZERRA *et al.*, 2022). Apesar de se apresentarem com efeitos cardioprotetores em doses fisiológicas, o uso de anabolizantes esteroidais de forma abusiva possui uma relação com o desenvolvimento de maiores riscos cardiovasculares, o que é bastante preocupante e, visto que esse é um problema de saúde pública, precisa de uma atenção especial (LIU; WU, 2019).

Em um estudo clínico envolvendo 22 homens, realizado a partir da avaliação dos efeitos negativos em um grupo de homens praticantes de levantamento de peso, confrontando com os dados de um grupo controle, foi observado que os usuários apresentaram aumento da pressão sistólica e diastólica em relação aos não usuários de anabolizantes. Ainda, pela avaliação de marcadores de aterosclerose e marcadores de risco aterotrombóticos que se encontravam alterados foi possível identificar que o uso de anabolizantes aumenta os riscos cardiovasculares (SEVERO *et al.*, 2013). Além disso, é evidenciado alterações nas lipoproteínas e apolipoproteínas decorrentes da estimulação da lipase hepática que acaba por reduzir o colesterol HDL, principalmente quando

utilizados os esteroides com atividade no carbobono 17- α - aquil administrados por via oral justificado pelo efeito de primeira passagem (HARTGENS, 2004).

Segundo Liu e colaboradores (2019), mesmo sem serem bem conhecidos os mecanismos de toxicidade dos anabolizantes, existem duas possíveis hipóteses relacionadas ao desenvolvimento de problemas cardiovasculares e o seu uso supra fisiológico. A primeira hipótese refere-se à formação de dímeros de receptores androgênicos (AR), como consequência de uma alteração conformacional causada pela interação destes com a molécula do anabolizante, de modo que tais dímeros seriam transportados para o núcleo celular e agiriam na ativação ou inativação da transcrição gênica, levando a efeitos tóxicos. No entanto, outro mecanismo também deve ser considerado, onde os dímeros formados podem interagir com proteínas citoplasmáticas, alterando vias de sinalização que induzem diretamente a toxicidade sem a participação da regulação gênica.

A hepatotoxicidade associada ao uso abuso de anabolizantes também é apontada como um problema crônico, em especial pela relação intrínseca da depuração desses compostos pelo metabolismo hepático, sendo relacionados ao aparecimento de lesões hepáticas, elevação de enzimas hepáticas séricas como a AST (aspartato amino transferase) e a ALT (alanina amino transferase), síndrome colestática aguda, peliose hepática (lesão crônica vascular do órgão) e tumores como os adenomas e carcinomas hepatocelulares. Tais lesões também podem ter relação com as alterações no perfil lipídico do usuário, considerando que o fígado é o órgão responsável pelo controle dos níveis de colesterol. O aparecimento dos efeitos adversos, dessa vez sobre o fígado, novamente está associado com maior incidência ao uso dos anabolizantes com atividade no Carbono 17- α - aquil administrados por via oral (KAHAL *et al.*, 2020; NIEDFELDT, 2018).

Os anabolizantes são conhecidos por causarem alterações dermatológicas, como acne, decorrente da hipertrofia de glândulas sebáceas e, conseqüentemente, maior produção de sebo na pele, podendo ocorrer na forma cística e extensa, aparecendo na região das costas com maior frequência (KICMAN; GOWER, 2003; MORAES, 2015).

1.1.4. O uso abusivo de anabolizantes no Brasil e no Mundo

A comercialização de anabolizantes no Brasil é regida pela Portaria 344/98 da Agência Nacional de Vigilância à Saúde (ANVISA), incluída na Lista C5, na qual dispõe

sobre o uso de receituário médico especial para venda desses produtos (BRASIL, 1998). Segundo a Lei 9.965/2000 da Casa Civil, esse grupo de medicamentos para uso humano, somente podem ser comercializados mediante apresentação e retenção de receita de controle especial emitida por profissional médico ou dentista (BRASIL, 2022).

Por meio um relatório emitido pelo Instituto de Segurança Farmacêutica (*Pharmaceutical Security Institute – PSI*), exposto com os dados de roubos, falsificações e desvio ilegal de medicamentos, foi demonstrado que durante o período de 2016 – 2019 ocorreu um aumento de 61% das ocorrências, de forma mundial. E em 2020, mesmo com uma pequena queda dos números em relação ao ano anterior, justificado pela pandemia, pode-se identificar um índice de grandes apreensões, sendo que dentro das 4.344 ocorrências, os anabolizantes ocupam o 4º lugar, como pertencente da classe de medicamentos hormonais com 106 apreensões, ficando atrás apenas dos medicamentos para o trato geniturinário, sistema nervoso central e anti-infecciosos (*PHARMACEUTICAL SECURITY INSTITUTE*, 2021).

Conforme publicação, com base em um levantamento realizado a partir das apreensões realizadas pela Polícia Federal entre os anos de 2007 e 2010, os anabolizantes compreendiam o 3º lugar de substâncias contrabandeadas. Ainda foi possível demonstrar que grande parte dos medicamentos que são apreendidos são falsificados e produzidos no exterior, e que sua via de entrada no nosso país é Por meio portos e fronteiras, fato evidenciado pelo quantitativo analisado ser em grande parte de origem paraguaia (AMES; SOUZA, 2012).

A Associação Nacional dos Peritos Criminais Federais demonstrou uma comparação dos relatórios apresentados em 2012 e 2018 a respeito das apreensões de medicamentos comercializados de forma ilegal. O relatório de 2018 mostrou um acréscimo de mais de 100% nas amostras enviadas para análise, o que resultou na emissão de 800 laudos de análise e que nos quais foi concluído que 86,9% dos medicamentos apreendidos eram irregulares no Brasil, não possuindo registro na ANVISA. A partir desse relatório, é possível observar que os anabolizantes representam 68% dos medicamentos apreendidos, sendo os estados de São Paulo e Paraná os principais responsáveis por envios de amostras para análise. Outro dado que foi levantado é que dos medicamentos apreendidos, 33% são de origem paraguaia, corroborando os dados de 2012 (ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PERITOS CRIMINAIS FEDERAIS, 2019).

Os anabolizantes ocuparam o terceiro lugar no ranking de apreensões brasileiras

entre os anos de 2007 a 2011. Assim como apontam Hurtado & Lasmar (2014), o Paraná é o estado brasileiro com maior número de casos, seguido de São Paulo e Santa Catarina. Dados levantados a partir de relatórios do Instituto Nacional de Criminalística do Departamento da Polícia Federal Brasileira, demonstraram que em média um terço dos produtos anabolizantes apreendidos no Brasil são declarados como obtidos a partir do Paraguai (país de fronteira). O mesmo levantamento apontou a nandrolona um dos principais princípios ativos declarados nos rótulos dos medicamentos anabolizantes apreendidos, ocupando o terceiro lugar dos relatos e ficando atrás apenas de estanozolol e testosterona e seus ésteres. E quando avaliado quanto à presença de substâncias não declaradas no rótulo, a nandrolona é o segundo anabolizante com essa ocorrência (NEVES; MARCHETI; CALDAS, 2013).

Existem alguns levantamentos feitos entre os usuários de anabolizantes, como por exemplo um estudo realizado no Estado da Bahia, que entrevistou 100 usuários de academia entre 18 a 35 anos, tanto do sexo masculino quanto do feminino. O estudo confirmou que o principal objetivo de uso de anabolizantes por esse grupo de usuários está relacionado com a melhora da aparência, e demonstrou que 63% dos entrevistados fez uso desses hormônios adquirindo-os a partir de amigos e sem acompanhamento médico (OLIVEIRA; CAVALCANTE NETO, 2018). A facilidade de acesso é uma agravante do consumo ilegal de anabolizantes, como visto em outra pesquisa realizada em Tocantins, que indicou que a influência de amigos (41%) está no principal método de aquisição de anabolizantes, quando entrevistados 100 usuários de 03 academias diferentes (TEBAS; SILVA; GONTIJO, 2012).

A preocupação com a falsificação traz alerta importante de forma mundial, e sua extensão é indeterminada, envolvendo autoridades internacionais e nacionais na tentativa de diminuir os riscos de exposição aos produtos de baixa qualidade (NEVES; MARCHETI; CALDAS, 2013).

A falsificação de medicamentos veio à tona pela primeira vez em um evento da Organização Mundial da Saúde (OMS) em 1985 sobre o Uso Racional de Medicamentos. Porém foi em Genebra, em 1992, que ocorreu a primeira reunião internacional sobre medicamentos falsificados. Segundo a OMS, alguns fatores são responsáveis pelos altos índices de falsificação de medicamentos, como a ausência de legislação proibindo a prática, sanções penais fracas, autoridades regulatórias sanitárias com baixa fiscalização, falta no controle das exportações, presença de zonas de livre comércio e conflitos de interesse. E conforme citado por outros autores, a falsificação ocorre em grande escala

em países com falta de legislação específica para combater e prevenir essa prática (WORLD HEALTH ORGANIZATION., 2006).

Um dos grandes desafios da indústria farmacêutica está associada a garantia da qualidade e controle da pureza dos medicamentos, e para isso são necessárias vigorosas verificações, evitando a presença de contaminantes que podem influenciar a eficácia e segurança dos medicamentos (VENKATESAN; VALLIAPPAN, 2014).

Quando um medicamento é falsificado, segundo definição da Organização Mundial da Saúde (2018), pode ser identificado como um produto que não contém nenhum ingrediente ativo, ou ingrediente ativo incorreto ou concentrações incorretas do ingrediente ativo, também conhecidos como “fora de especificações”. No entanto, possuem uma semelhança muito grande com os produtos originais quanto às embalagens e apresentam uma dificuldade de detecção visual, tornando trabalhosa a identificação desse produto.

O uso de técnicas empregadas na área de química analítica está bem estabelecido na determinação da pureza e qualidade de medicamentos, e a aplicação de métodos Por meio análises cromatográficas e não cromatográficas permitem o isolamento das impurezas para posterior caracterização. O uso de instrumentos altamente sofisticados como a espectrometria de massas acoplada à cromatografia gasosa, por exemplo, é uma análise pioneira na identificação de pequenos contaminantes em diversas matrizes (VENKATESAN; VALLIAPPAN, 2014).

Existem diferentes estudos que relatam metodologias utilizadas para detectar a presença de anabolizantes como contaminantes de outros produtos farmacêuticos, ou até mesmo para analisar produtos comercializados de forma ilegal. A análise de anabolizantes é realizada principalmente por técnicas conjuntas de forma que ocorra uma extração seguida da etapa analítica, como cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia em fase líquida com espectrometria de massa (CL-EM), pois produzem resultados confiáveis e reprodutíveis (GRAHAM *et al.*, 2009).

A técnica CG-EM é considerada o padrão ouro para análises toxicológicas, pois proporciona separações cromatográficas de alta eficiência e alta resolução, o uso de fases móveis constituídas por gases homogêneos (hélio ou hidrogênio), a facilidade de otimizar as condições cromatográficas e o uso de bibliotecas para identificação de compostos (MBUGHUNI; JANNETTO; LANGMAN, 2016).

Aplicada desde 1966 para a determinação de metabólitos de esteroides, a CG-EM

tornou-se parte central de diversas linhas de pesquisa. Devido à baixa compatibilidade dos metabólitos esteroidais com as características de análise da CG, faz-se necessária a realização de reações químicas prévias para tornar as moléculas voláteis. A aplicação da CG teve grande contribuição no desenvolvimento e otimização das técnicas de extração, hidrólise e derivatização de esteroides (MARCOS; POZO, 2016).

As estratégias analíticas utilizadas em CG-EM têm sido melhoradas para obter uma maior eficiência de separação. Pela introdução recente de colunas de diâmetro estreito, fornos rápidos, controladores de fluxo constante – todos interfaciados com um detector rápido (por exemplo, um espectrômetro de massa de varredura rápida), permitindo as limitações de detectores mais *lentos* a serem superados – oferece resolução cromatográfica e velocidade importante e nunca antes observada, uma característica bastante útil quando se considera a análise de um grande número de amostras com um espaço curto de tempo disponível. Quando utilizada acoplada à espectrofotometria de massas com método de monitoramento de íons (*SIM – Selected ion monitoring*) comprovou-se adequado para ser utilizado em laboratórios de detecção de *dopping* (MAZZARINO; ORENGIA; BOTRÈ, 2007).

Em 2017, a Polícia Federal Brasileira utilizou a técnica de CG-EM na quantificação de 345 amostras de anabolizantes apreendidas. Neste trabalho foi realizada a validação do método como proposta de quantificação, sem derivatização das amostras, utilizando metanol como solvente. No estudo de Neves foi possível identificar que 42% dos medicamentos analisados eram falsificados e detectar a presença de substâncias não declaradas (anabolizantes) em 05 suplementos alimentares (NEVES; CALDAS, 2017).

Pellegrini e colaboradores também realizaram a mesma estratégia analítica para preparo e validação do método. Sendo que o reagente de derivatização utilizado foi uma mistura de N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA), iodeto de amônio (NH₄I) e ditioeritritol (DTE) (MSTFA/NH₄I/DTE - 1000:2:6 v:v:v) e o limite de quantificação obtido foi de 20 µg/mL (ROTOLO *et al.*, 2011).

Nas análises realizadas por VAN POUCKE *et al.*, 2007, a técnica utilizada foi CL-EM. A vantagem desta é que não é necessária a reação de derivatização. O estudo avaliou 19 suplementos alimentares comprados *online*. Dentro desse estudo, foram desenvolvidos 03 métodos de extração, nos 02 primeiros métodos haviam todos os anabolizantes esteroidais que foram ionizados no método *electrospray* positivo, enquanto no terceiro método o modo *electrospray* foi operado de forma negativa. E todos os 03 métodos foram analisados utilizando um sistema de monitoramento de reações múltiplas,

utilizando a busca de 02 íons produzidos de cada anabolizante. Nesse estudo, obteve-se como resultado em Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) inferiores a 0,01 mg unidade e tiveram seus resultados foram confirmados pelo método de varredura dos íons. As análises desse trabalho demonstraram que 60% das amostras apresentavam anabolizantes na sua composição.

Em um trabalho desenvolvido por Kozlik & Tircova, 2016, foi empregada a cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) com o intuito de desenvolver e validar um método para determinar e quantificar quatro sais de testosterona em nove amostras oleosas injetáveis obtidos do comércio ilegal na Eslováquia. A partir do método desenvolvido utilizando-se isopropanolol como solvente, os autores obtiveram LD e LQ entre 0,022 µg/mL e 0,074 µg/mL, respectivamente. Esse estudo apresentou a técnica como uma forma simples, rápida e confiável para determinar amostras contendo testosterona (KOZLIK; TIRCOVA, 2016).

Para a análise de 19 amostras apreendidas no mercado coreano, Cho e colaboradores (2015) utilizaram a técnica da cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrofotometria de massas sequencial (UHPLC/MS-MS), com o teste adaptado para detectar 26 anabolizantes, foi possível identificar que 50% das amostras estavam adulteradas. Os autores utilizaram uma mistura de água destilada e metanol para a extração das amostras e apresentaram LQ entre 0,5 -25 ng/mL para os 26 compostos validados (CHO *et al.*, 2015).

Na prática, muitos pesquisadores buscam adaptar os métodos de análises para alcançarem a finalidade desejada, e para que possam garantir a segurança da técnica desenvolvida, é exigido que seja realizado o processo de validação. A validação de um processo analítico objetiva demonstrar que o procedimento é adequado para uma finalidade, com um conjunto determinado de características e critérios de desempenho de acordo com o uso pretendido (HARMONISATION, 2022). Realizada avaliando uma série de características de desempenho do método, como seletividade, linearidade, homocedasticidade, efeito de matriz, LD e LQ, recuperação e precisão (INMETRO, 2020).

No desenvolvimento de métodos quantitativos, um dos pontos de grande importância se relaciona à calibração, pois é por meio dela que os resultados brutos obtidos são transformados em unidades de concentração, utilizando-se de regressão estatística (VANATTA; COLEMAN, 2007). Tema de diversos trabalhos e pesquisas, após a avaliação de muitas formas de validação, enfim foi sugerido que existem múltiplas maneiras de ajustar a curva analítica (calibração) e linearidade, desde gráficos, teste de

significância estatística e parâmetros numéricos (RAPOSO, 2016).

A determinação de limites de detecção e limite de quantificação também são parâmetros importantes na validação de um método analítico, possui a finalidade de testar a capacidade de detecção e quantificação de uma metodologia. O limite de detecção deve ser obtido a partir da avaliação da variância do sinal residual em concentração zero, estimando o seu valor a partir dos níveis mais baixos da curva de calibração, definindo valores reais, não devendo ser confundido com sensibilidade e não está associado a nenhum resultado específico obtido. O limite de quantificação é tido como valores iguais ou maiores que o ponto de menor concentração presente na curva analítica, onde é possível manter precisão aceitável na determinação da concentração do analito (BERNAL, 2014).

1.2. Justificativa

Como forma de melhorar o rendimento atlético e até mesmo para obter um resultado estético de forma mais rápida, muitos indivíduos procuram fazer uso de anabolizantes. Porém, por esse grupo de medicamentos ser controlado pela Portaria 344/98 da ANVISA, o acesso acaba sendo complexo. A compra legal e restrita dos anabolizantes não é um impeditivo para o uso dessas substâncias pelos frequentadores de academias, esportistas profissionais e atletas amadores. Sendo considerado um problema de saúde mundial, chamando a atenção de autoridades de saúde.

Infelizmente, o mercado clandestino é uma via de aquisição dessa classe de medicamentos que está se tornando cada vez mais comum. Conforme relatos das diversas agências de segurança nacionais, as apreensões de medicamentos contrabandeados e falsificados vêm tomando proporções muito grandes no mundo todo. A falsificação de medicamentos, bem como sua comercialização envolve um grande mercado econômico, em valores próximos de 100 bilhões de dólares. Sendo os anabolizantes um dos principais medicamentos vendidos ilegalmente (WORLD HEALTH ORGANIZATION., 2019).

Muitas vezes o produto adquirido de forma clandestina possui uma baixa qualidade, no qual as suas análises demonstram ausência total do princípio ativo, possuindo apenas seu excipiente, ou quantidades inferiores às descritas no rótulo.

Desta forma, considerando que a cidade de Foz do Iguaçu pertence à tríplice fronteira e devido ao grande número de apreensões de anabolizantes oleosos pela Polícia

Federal, torna-se relevante a avaliação da qualidade dos anabolizantes ilegais apreendidos. Tais resultados poderão ajudar na adoção futura de políticas públicas.

1.3. Pergunta norteadora

Sendo assim a pergunta norteadora desse trabalho é: Os anabolizantes apreendidos possuem qualidade a respeito das concentrações do princípio ativo declarado?

1.4. Hipótese

- H_0 : os anabolizantes apreendidos possuem concentrações do princípio ativo conforme declarado.

- H_1 : os anabolizantes apreendidos possuem desvios de qualidade a respeito das concentrações do princípio ativo declarado.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- quantificar e qualificar, pela técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas, os princípios ativos presentes em amostras de anabolizantes a base de nandrolona apreendidos pela Polícia Federal na cidade de Foz do Iguaçu (PR), com o intuito de avaliar a qualidade desses produtos a que a população Brasileira está exposta.

2.2. Específicos

- validar o método de análise por CG-EM para anabolizantes oleosos a base de nandrolona, seguindo as orientações do DOQ-CGCRE-008 do INMETRO, pela determinação dos parâmetros de: linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, seletividade, recuperação, precisão e efeito de matriz; e
- comparar a qualidade dos anabolizantes apreendidos pela avaliação de resultados de autores de outros países e localidades.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostras

As amostras analisadas foram selecionadas a partir das apreensões realizadas pelo departamento de Polícia Federal na cidade de Foz do Iguaçu (PR), compreendendo anabolizantes oleosos obtidos a base de nandrolona, no período de 2019 a 2022.

As amostras foram armazenadas em freezer (-20°C), em frasco-ampola vedados até o momento da análise.

As amostras eram de diferentes fabricantes, segundo informações constantes em seus rótulos, tinham como procedência: Paraguai (33); Índia (4); Brasil (2) e desconhecida (1), com excipientes oleosos que diferiam entre as amostras, conforme a fotografia 1, proporcionando características como viscosidade, densidade e colorações próprias de cada marca. As colorações dos produtos são atribuídas à adição de corantes (verde, vermelho, azul) que auxiliam a diferenciar as marcas ou produtos.

Fotografia 1. Exemplos de amostras apreendidas contendo nandrolona em seu rótulo



Fonte: Arquivos cedidos da DPF-PR, 2022.

As amostras foram enumeradas e tabeladas de acordo com o número do material, perito, informações do rótulo do produto e laudo prévio emitido de forma qualitativa. Os dados planilhados serviram de base para avaliação qualitativa e quantitativa das amostras.

3.2. Preparo das amostras

O preparo das amostras foi feito Por meio diluição em tubo de microcentrífuga, levando-se em consideração a diluição de 250 vezes, dividida em duas etapas, nomeadas como diluição 1 e diluição 2. O solvente utilizado foi a mistura de acetonitrila e acetato de etila em proporções iguais (1:1).

A diluição 01 foi preparada colocando-se 950 µL de solvente e adicionando-se 50 µL da amostra. Após homogeneização em vortex, as amostras foram congeladas a -20°C durante 24 horas. A diluição 2 foi preparada colocando-se 1230 µL de solvente, 120 µL do sobrenadante da diluição 1 e 150 µL de padrão interno de cloridrato de sibutramina ((±)-dimethyl-1-[1-(4- chlorophenyl)- cyclobutyl]-N,N,3-trimethylbutan-1-amine) na forma de substância química de referência (FIOCRUZ – INCQS – Brasil) utilizado na concentração de 102 µg/mL.

3.3. Validação do método

A validação do método de quantificação foi realizada seguindo as orientações do DOQ-CGCRE-008 do INMETRO (INMETRO, 2020), por meio da determinação dos parâmetros de: seletividade, linearidade, homocedasticidade, efeito de matriz, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), recuperação e precisão.

Para determinação e cálculo de parâmetros de validação foi utilizada a planilha de validação de métodos analíticos proposta por Ribeiro (RIBEIRO; FERREIRA, 2008).

3.4. Curva analítica

Para a quantificação das amostras e construção da curva analítica foi utilizado padrão analítico liofilizado decanoato de nandrolona (8*R*,9*S*,10*R*,13*S*,14*S*,17*S*-17-hydroxy-13-methyl-2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1*H*-cyclopenta[*a*]phenanthren-3-one – DR-EHRENSTORFER, Alemanha), que foi diluído com AE/ACN grau HPLC (1:1, v/v), obtendo-se uma concentração final da solução estoque igual a 10 mg/mL. A partir da solução estoque foi construída a curva analítica considerando as concentrações de 200, 250, 300, 350, 400 e 450 µg/mL.

O padrão interno utilizado foi o cloridrato de sibutramina ((±)-dimethyl-1-[1-(4-chlorophenyl)-cyclobutyl]-N,N,3-trimethylbutan-1-amine) na forma de substância química

de referência (FIOCRUZ – INCQS – Brasil) na concentração de 102 µg/mL em cada ponto da curva analítica.

3.5. Linearidade

Todos os pontos das curvas foram injetados em seis repetições. O sinal analítico foi considerado a área do padrão dividido pelo sinal do padrão interno, com as quais obteve-se as curvas analíticas.

Para análise da linearidade foi utilizada a regressão linear, coeficiente de correlação (r) e o gráfico de resíduos (homocedasticidade), a partir da comparação dos resíduos do ajuste linear das amostras e do ajuste quadrático das mesmas, utilizando-se de um teste F de significância. e o gráfico de resíduos (homocedasticidade), conforme orientação do INMETRO.

3.6. Limite de detecção e limite de quantificação

Foi utilizado o método estimado a partir da curva analítica, utilizando-se da planilha eletrônica proposta por Ribeiro (RIBEIRO; FERREIRA, 2008), pelo cálculo de intervalo de confiança da curva obtida, levando-se em consideração o erro padrão e seu produto em relação ao valor apropriado ao t da distribuição de *Student*. Segundo Ribeiro, os valores de LD e LQ podem ser calculadas da forma descrita abaixo.

Sendo, y_c ou y crítico que representa o intercepto do limite superior do intervalo de confiança, a_0 coeficiente linear, s_y desvio padrão do ajuste linear, N é o número de padrões de calibração utilizados, \bar{x} é o valor médio da concentração (x_i) para o n . Considerando, a_1 coeficiente angular, e \bar{y} a média dos sinais obtidos e que y_n é o valor de y para a projeção de x_c no limite de controle superior.

Limite de Detecção:

$$(a) y_c = a_0 \cdot s_y \cdot t \cdot \sqrt{\left(\frac{1}{N}\right) + 1 + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$(b) LD = 2 \cdot \frac{s_y \cdot t}{a_1} \cdot \sqrt{I \frac{1}{N}}, +1 + \frac{(y - \bar{y})^2}{a_1^2 \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} 2$$

Limite de Quantificação:

$$(a) y_h = a_0 + 2 \cdot s_y \cdot t \cdot \sqrt{\left(\frac{1}{N}\right) + 1 + \frac{(x_c - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$(b) x_c = \left(\frac{s_y \cdot t}{a_1}\right) \cdot \sqrt{\left(\frac{1}{N}\right) + 1 + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$(c) LQ = \left(\frac{y_h - a_0}{a_1}\right) + \left(\frac{s_y \cdot t}{a_1}\right) \cdot \sqrt{1 \frac{1}{N}}, +1 + \frac{(y_h - \bar{y})^2}{a_1^2 \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

3.7. Seletividade

A identificação e quantificação dos ésteres de nandrolona consistiu no monitoramento do íon 110 m/z pertencente a molécula da nandrolona, independente dos ésteres que a constituem. O método cromatográfico também foi programado para que não houvesse coeluição de nenhum dos ésteres de nandrolona, permitindo a qualificação das amostras e tornando o método seletivo.

3.8. Recuperação

A recuperação está relacionada com a exatidão, pois reflete a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra (BRASIL, 2017). A recuperação foi estimada pela fortificação de amostras com quantidades conhecidas dos padrões, em três diferentes concentrações (baixa = 200 µg/mL, média = 300 µg/mL e alta = 450 µg/mL) da faixa de trabalho do método.

Após o preparo das amostras fortificadas e leitura dos sinais obtidos para cada

concentração, foi calculado o valor de recuperação, pela fórmula:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{(C1 - C2)}{C3} \times 100, \text{ onde:}$$

C1= concentração do analito na amostra fortificada;

C2= concentração do analito na amostra não fortificada; e

C3= concentração do analito adicionado na amostra fortificada.

Após a realização do cálculo, foi feita a comparação com os critérios de aceitação de recuperação de acordo com orientações normativas da legislação aplicável.

3.9. Precisão

A precisão tem como objetivo avaliar a proximidade dos resultados obtidos pela repetibilidade do método analítico a ser validado. Pode ser expressa pela repetibilidade, pela precisão intermediária ou pela reprodutibilidade. Utiliza-se o cálculo de desvio padrão relativo (DPR), demonstrando a dispersão dos resultados obtidos.

Foi realizado o estudo de precisão pelo processo de repetibilidade, ou precisão intra-ensaios, Por meio determinações para seis níveis (200-250-300-350-400-450 µg/mL) de concentração-teste.

Desvio Padrão:

$$s = \left[\sum_{i=1}^n : \frac{(x_i - \bar{x})^2}{N-1} \right]^{\frac{1}{2}}$$

E o valor médio do número total das medidas (N), calculado $\left(\bar{x} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{N} \right)$, na qual x_i cada uma das medidas individuais, a partir do qual é possível obter-se o DPR, pela fórmula: $DPR = \frac{100s}{\bar{x}}$

3.10. Efeito matriz

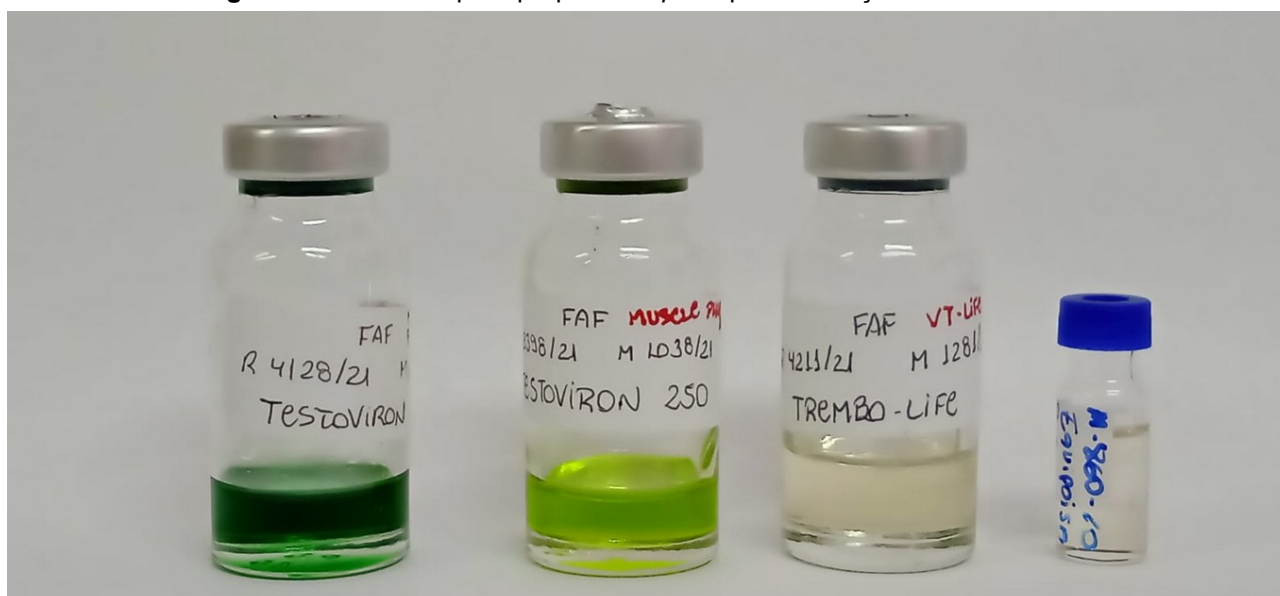
Segundo a RDC 166/2017 (BRASIL, 2017) o efeito matriz demonstra a

interferência dos componentes da matriz nos resultados analíticos, e pode ser realizada pela construção da curva analítica em solvente e em matriz sem analito previamente analisada, e comparada a inclinação das curvas.

Com a intenção de obter uma matriz representativa das diferentes amostras, realizou-se um *pool* de 04 amostras com colorações diferentes e fabricantes distintos, conforme fotografia 2. Esta mistura de amostras (*pool*) foi utilizado como solvente da curva analítica nas mesmas concentrações da curva com solvente.

Para essa determinação foi utilizado o teste *t de Student* para comparar as inclinações das retas obtidas, propondo as hipóteses: $H_0 = \mu_1 = \mu_2$ ou $H_1 = \mu_1 \neq \mu_2$, considerando que H : é a hipótese e μ : são os valores de cada curva, sendo assim se $H_0 =$ indica que não existe efeito de matriz e $H_1 =$ existe efeito de matriz.

Fotografia 2. Amostras para preparo do “*pool*” para avaliação do Efeito de Matriz



Fonte: dos autores, 2022.

3.11. Análise cromatográfica

Para a análise dos anabolizantes foi utilizado o equipamento CG System modelo 7890A da Agilent Technologies (EUA), acoplado ao espectrômetro Inert XL MSD com Triple-Axis Detector modelo 5975C da Agilent Technologies com injetor automático Agilent Technologies 7683B series, operando no modo de impacto eletrônico de 70 eV. A separação dos anabolizantes ocorreu em coluna HP-5MS 5% Phenyl Methyl Silox (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m; Sigma Aldrich – EUA); com gás hélio empregado como gás de

arraste em fluxo de 0,8 mL/minutos; o volume de injeção de 1 µL a velocidade de injeção de 70 µL/segundo; Programação de temperatura: 60°C até 150°C a 40°C/min. (1 min.), até 315°C a 04°C/min. (20 min.).

Para a aquisição dos dados, seguiu-se o método de monitoramento de íons (*SIM – Selected ion monitoring*) no espectrômetro de massas (EM), sendo os íons apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Tempo de retenção e íons monitorados da sibutramina e decanoato de nandrolona

Analito	Tempo de Retenção (min)	Target Ion (m/z)**
Sibutramina (PI)	15,70	114*
Decanoato de nandrolona	47,77	110*, 91, 274

* Íon molecular

**m/z: razão massa/carga

Fonte: dos autores, 2022.

3.12. Análise estatística dos dados

Para a validação do método foi utilizada a planilha de Ribeiro (Unicamp - Brasil) (RIBEIRO; FERREIRA, 2008). O teste *t de Student* foi utilizado para comparação dos coeficientes angulares das curvas de calibração na matriz e no solvente com auxílio do programa Bioestat (Universidade Federal do Pará – Brasil) para a análise das variações entre as retas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sabendo-se que o bom desempenho de um método analítico está relacionado principalmente à qualidade das medidas instrumentais e à confiabilidade dos dados estatísticos envolvidos, o estabelecimento de limites dos parâmetros é de suma importância para assegurar a aplicabilidade e alcance do método desenvolvido, em um processo chamado de validação. A regulação dos métodos analíticos no Brasil, podem seguir as diretrizes de dois órgãos regulamentadores: a ANVISA e o INMETRO.

Na prática, muitos pesquisadores buscam adaptar os métodos de análises para alcançarem a finalidade desejada, e para que possam garantir a segurança da técnica desenvolvida, é exigido que seja realizado o processo de validação. A validação de um processo analítico objetiva demonstrar que o procedimento é adequado para uma finalidade, com um conjunto determinado de características e critérios de desempenho de acordo com o uso pretendido (ICH, 2022).

No presente trabalho, o preparo das amostras avaliadas foi realizado sem o processo de derivatização por meio de extração simples, diferente dos trabalhos apresentados anteriormente como apresentado por Pellegrini e colaboradores em 2011, tornando o método simples e rápido nessa etapa, o Apêndice A apresenta os valores obtidos para a curva analítica utilizando-se da planilha de Ribeiro.

Os resultados obtidos para a validação do método podem ser encontrados descritos na tabela 3. Nela estão os valores de linearidade (r e r^2), recuperação em três níveis (baixo, médio e alto), LD e LQ, bem como o desvio padrão relativo (DPR %) de todos os níveis.

Tabela 3. Parâmetros de validação do método por CG-EM

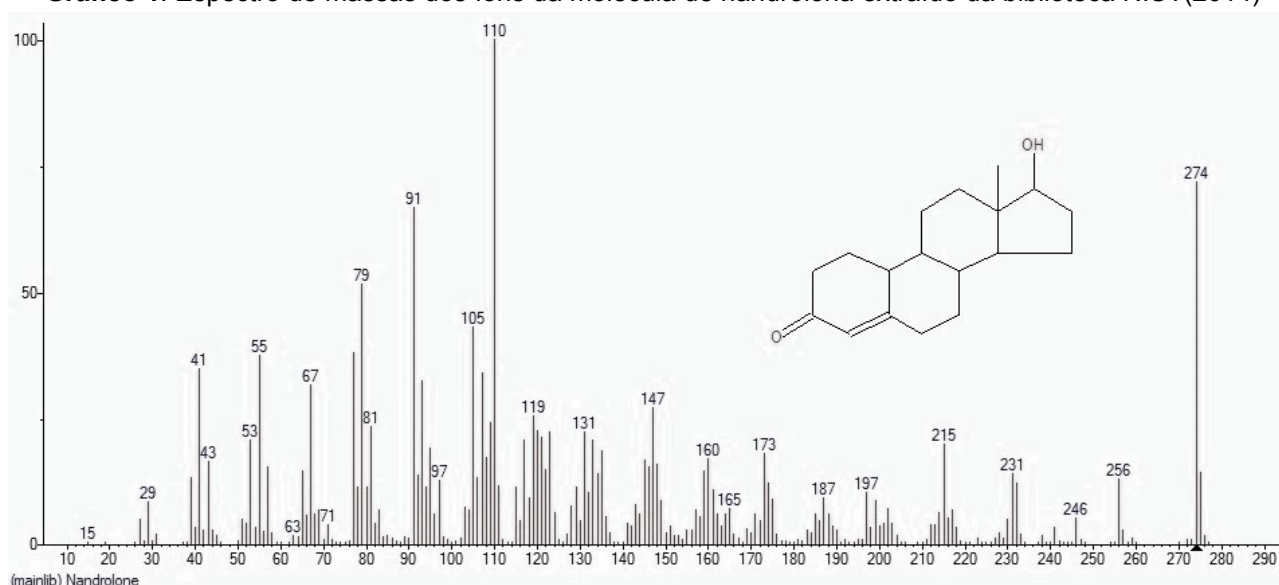
Linearidade µg/mL	R	R ²	Equação da Reta	LD (µg/mL)	LQ (µg/mL)	Nível (µg/mL)	Precisão - DPR(%) n=06	Exatidão (%) n = 3
200 – 450	0,9933	0,9867	$y = 0,0178 x - 2,5119$	50,97	72,77	200	0,31	94,6
						250	3,52	
						300	1,65	90,5
						350	4,72	
						400	3,95	
						450	3,42	93,5

Fonte: dos autores, 2022.

4.1. Seletividade e efeito de matriz

A identificação da nandrolona foi realizada pelos íons 91 e 110, e a quantificação dos ésteres de nandrolona consistiu no monitoramento do íon 110 m/z. Desta forma, independente dos ésteres que a constituem a nandrolona pode ser identificada e qualquer éster de nandrolona pode ser quantificado (Gráfico 1). O método cromatográfico também foi programado para que não houvesse coeluição de nenhum dos ésteres de nandrolona, permitindo a qualificação das amostras e tornando o método seletivo.

Gráfico 1. Espectro de massas dos íons da molécula de nandrolona extraído da biblioteca NIST(2014)



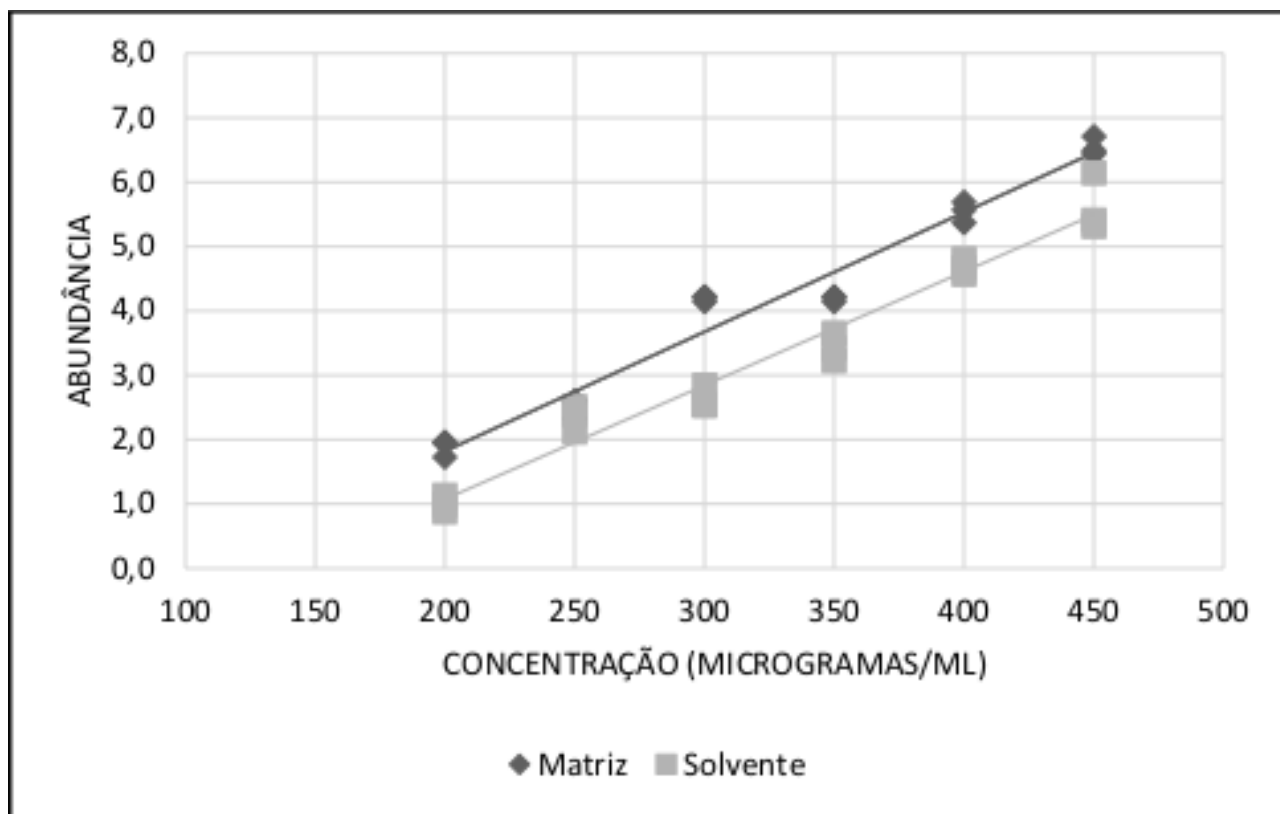
Fonte: Biblioteca NIST, 2014.

Determinou-se o método seletivo após a avaliação da ausência de interferência nos picos e na retenção dos analitos, conforme demonstrado nos cromatogramas obtidos nas análises (Apêndice B). Resultado semelhante descrito e encontrado outros estudos de validação do método de cromatografia gasosa em diferentes matrizes (MAZZARINO; ORENGIA; BOTRÈ, 2007; NEVES; CALDAS, 2017).

O test t de *Student* revelou que as inclinações das retas no solvente e na matriz (matriz $\alpha_1 = 0,0185$; solvente $\alpha_1 = 0,0178$) não diferenciariam estatisticamente para o nível de confiança 90%, pois o valor obtido de t foi de 1,431 e o t crítico de 1,691. Podemos observar no Gráfico 2 que apesar das inclinações serem equivalentes, o solvente proporciona menores níveis de sinais para cada concentração, o que irá gerar menores LD e LQ em relação a matriz. Com tais resultados prosseguiu-se os demais parâmetros

de validação no solvente.

Gráfico 2. Comparação das inclinações das retas obtidas das curvas analíticas em solvente e em matriz



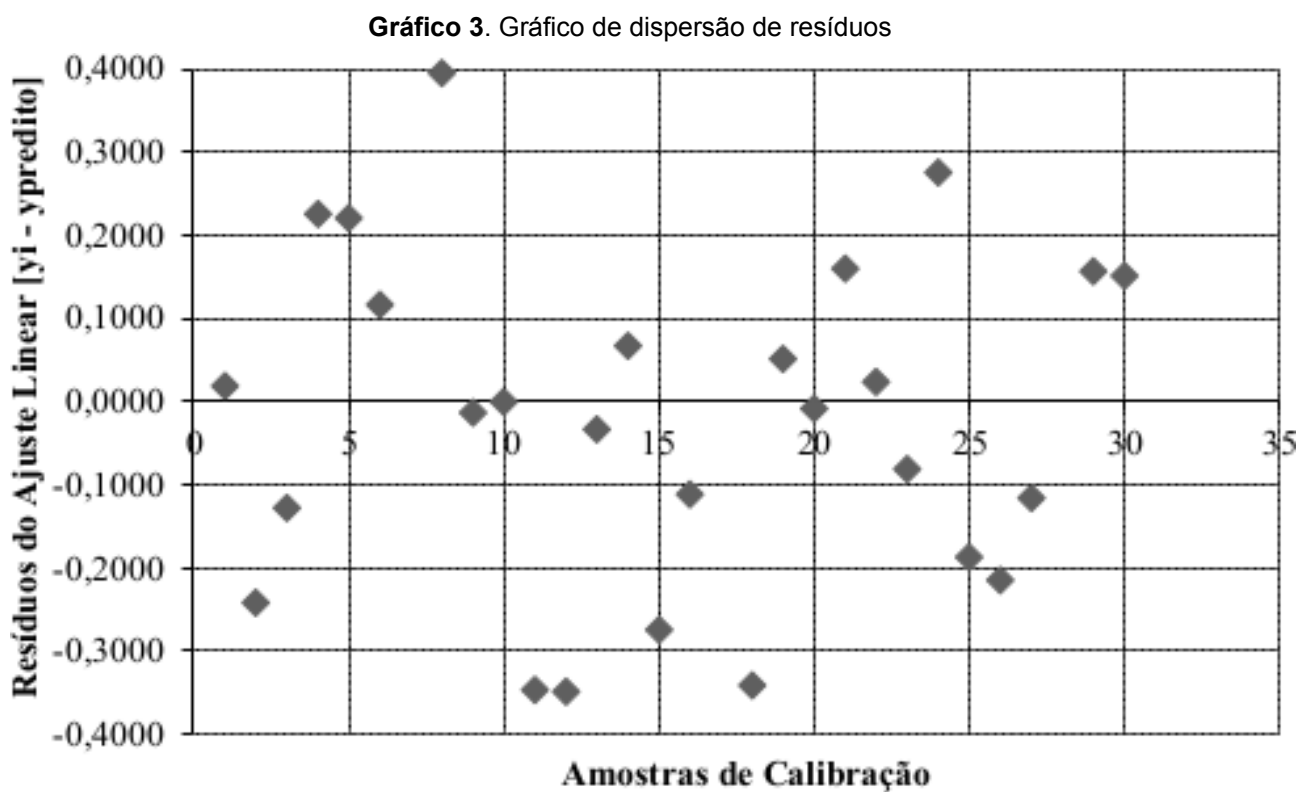
Fonte: dos autores, 2022.

Assim como outra pesquisa semelhante realizada no Brasil em 2017 não encontrou diferenças significantes em relação aos resultados obtidos na matriz comparando com o solvente metanol (NEVES; CALDAS, 2017). A presença de efeito de matriz em uma análise cromatográfica a gás, foi anteriormente explicada em outra pesquisa, justificando as alterações em resultados decorrentes da adsorção e termodegradação dos analitos em solventes puros nos sítios ativos da coluna, situação ausente na injeção de analitos com matriz rica em outros compostos capazes de bloquear esse fenômeno e gerando sinais mais intensos das amostras (ERNEY *et al.*, 1993).

4.2. Linearidade e homocedasticidade

A curva analítica foi realizada em seis níveis de concentração (200, 250, 300, 350, 400 e 450 µg/mL) realizados em sextuplicatas. O modelo apresentou um coeficiente de correlação de 0,9933, indicando a linearidade (Tabela 3). A adequação do modelo linear

também pode ser avaliado pelo gráfico de resíduos, examinando a homocedasticidade, observada pela distribuição aleatória dos resíduos em torno da linha zero (SCIENTIFIC WORKING GROUP FOR FORENSIC TOXICOLOGY (SWGTOX), 2013). A dispersão dos resíduos obtidos no gráfico, demonstraram um sistema homocedástico, pela distribuição aleatória dos resíduos em torno da linha zero (Gráfico 3).



4.3. Determinação de limite de detecção e limite de quantificação

Os LD e LQ obtidos foram 50,97 e 72,77 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 4), respectivamente. Os valores LD e LQ encontrados foram menores do que os descritos por Neves e Caldas (2017), que proporcionou para ampolas oleosas limites de quantificação nandrolona 1,2800 $\mu\text{g/mL}$ (1,28 mg/mL). No entanto, Pellegrini *et al.*, 2012 obteve menor limite de quantificação para amostras líquidas com valor de 20 $\mu\text{g/mL}$, utilizando uma mistura de solventes a base de clorofórmio-isopropanolol (1:1, v/v). Porém, considerando os níveis de concentração na ordem de mg/mL utilizados nas ampolas comerciais, consideram-se ótimos os LD e LQ obtidos.

Tabela 4. Teores de nandrolona descritos nos rótulos e dosados nas amostras de anabolizantes à base de ésteres de nandrolona apreendidos na cidade de Foz do Iguaçu/PR (Brasil)

Amostra	Éster Declarado	Concentração medida \pm DP (mg/mL)	Concentração esperada ¹ (mg/mL)
01	Decanoato de Nandrolona	95,9 \pm 0,3	100
02	Decanoato de Nandrolona	102,7 \pm 0,3	200
03	Decanoato de Nandrolona	100,4 \pm 0,3	200
04	Decanoato de Nandrolona	103,8 \pm 0,3	200
05	Fenilpropionato de Nandrolona	96,3 \pm 0,3	100
06	Decanoato de Nandrolona	204,2 \pm 0,3	200
07	Decanoato de Nandrolona	207,3 \pm 0,3	200
08	Decanoato de Nandrolona	116,3 \pm 0,3	200
09	Decanoato de Nandrolona	103,7 \pm 0,3	200
10	Fenilpropionato de Nandrolona	104,6 \pm 0,3	100
11	Decanoato de Nandrolona	Não detectado	200
12	Decanoato de Nandrolona	113,5 \pm 0,3	200
13	Decanoato de Nandrolona	Drostanolona	300
14	Fenilpropionato de Nandrolona	105,8 \pm 0,3	100
15	Fenilpropionato de Nandrolona	Drostanolona	100
16	Decanoato de Nandrolona	81,8 \pm 0,3	200
17	Decanoato de Nandrolona	147,2 \pm 0,3	200
18	Decanoato de Nandrolona	120,1 \pm 0,4	200
19	Decanoato de Nandrolona	103,7 \pm 0,3	100
20	Decanoato de Nandrolona	112,4 \pm 0,3	200
21	Decanoato de Nandrolona	Não detectado	250
22	Fenilpropionato de Nandrolona	63,1 \pm 0,3	100
23	Decanoato de Nandrolona	136,1 \pm 0,3	300
24	Decanoato de Nandrolona	88,3 \pm 0,5	200
25	Fenilpropionato de Nandrolona	49,8 \pm 0,4	100
26	Decanoato de Nandrolona	142,2 \pm 0,4	250
27	Fenilpropionato de Nandrolona	75,7 \pm 0,3	100
28	Decanoato de Nandrolona	197,5 \pm 0,3	200
29	Fenilpropionato de Nandrolona	57,6 \pm 0,3	100
30	Decanoato de Nandrolona	120,2 \pm 0,7	200
31	Decanoato de Nandrolona	194,2 \pm 0,3	200
32	Decanoato de Nandrolona	93,1 \pm 0,7	300
33	Decanoato de Nandrolona	134,1 \pm 0,3	200
34	Decanoato de Nandrolona	101,9 \pm 0,3	200
35	Decanoato de Nandrolona	127,2 \pm 0,6	200
36	Decanoato de Nandrolona	137,7 \pm 0,5	300
37	Decanoato de Nandrolona	130,6 \pm 0,3	200
38	Decanoato de Nandrolona	129,8 \pm 0,3	200
39	Decanoato de Nandrolona	132,7 \pm 0,3	300
40	Decanoato de Nandrolona	134,1 \pm 0,3	300

¹ Concentração descrita no rótulo do produto.

4.4. Determinação da precisão e exatidão

Os valores de recuperação foram de 94,6; 90,5 e 93,5 % para os níveis baixo (200 µg/mL), médio (300 µg/mL) e alto (450 µg/mL), respectivamente. Estes valores encontram-se de acordo com as normas estabelecidas pelo INMETRO (19), podendo variar de 90 a 107 %.

Para a determinação dos índices de precisão do método, foi utilizado a repetibilidade intradia com o cálculo de Desvio Padrão Relativo (DPR%) nos seis níveis da curva analítica. Os resultados de DPR% variaram de 0,3 a 4,7%, de acordo com as orientações do INMETRO que sugere resultados aceitáveis até valores de 5,3 % para os níveis trabalhados.

4.5. Avaliação das amostras

A avaliação dos produtos apreendidos, iniciou por meio de avaliação das embalagens, com comparação entre rótulos de fabricantes e posterior análise química utilizando-se CG-EM no modo SCAN de forma a produzir os laudos forenses. Nessa prévia avaliação pode-se verificar que: 2 (5%) amostras não continham nenhum anabolizante na sua composição; 2 (5%) amostras continham anabolizantes não descritos de acordo com o rótulo e 36 (90%) amostras continham os anabolizantes descritos no rótulo (Gráfico 4). Tais resultados são semelhantes à avaliação qualitativa realizada em uma análise recente com 40 produtos apreendidos no Brasil e avaliados por magnética nuclear de prótons (RMN 1H) que qualificou 20% (08) das amostras com ausência dos anabolizantes descritos no rótulo (RIBEIRO *et al.*, 2018).

A determinação qualitativa de amostras é superficial para determinar que um produto falsificado/ilegal esteja dentro dos padrões de qualidade em relação à concentração de anabolizantes, visto que a partir dessa análise é possível apenas confirmar a presença ou não do princípio ativo do produto com o seu rótulo, não levando em consideração as concentrações que podem ser identificadas em subdoses ou sobredoses. Por isso estudos quantitativos se fazem necessários, para uma melhor avaliação de qualidade de produtos farmacêuticos.

Os ésteres de nandrolona declarados nos rótulos dos medicamentos descritos neste trabalho foram fenilpropionato e decanoato, sendo que este último era o mais abundante e estava presente em 80% das amostras, seguindo os dados que demonstram que o decanoato de nandrolona é o éster mais consumido entre os anabolizantes

injetáveis, conforme relatório emitido pela *National Institute on Drug Abuse* (NIDA, 2020).

Gráfico 4. Avaliação qualitativa das amostras de anabolizantes

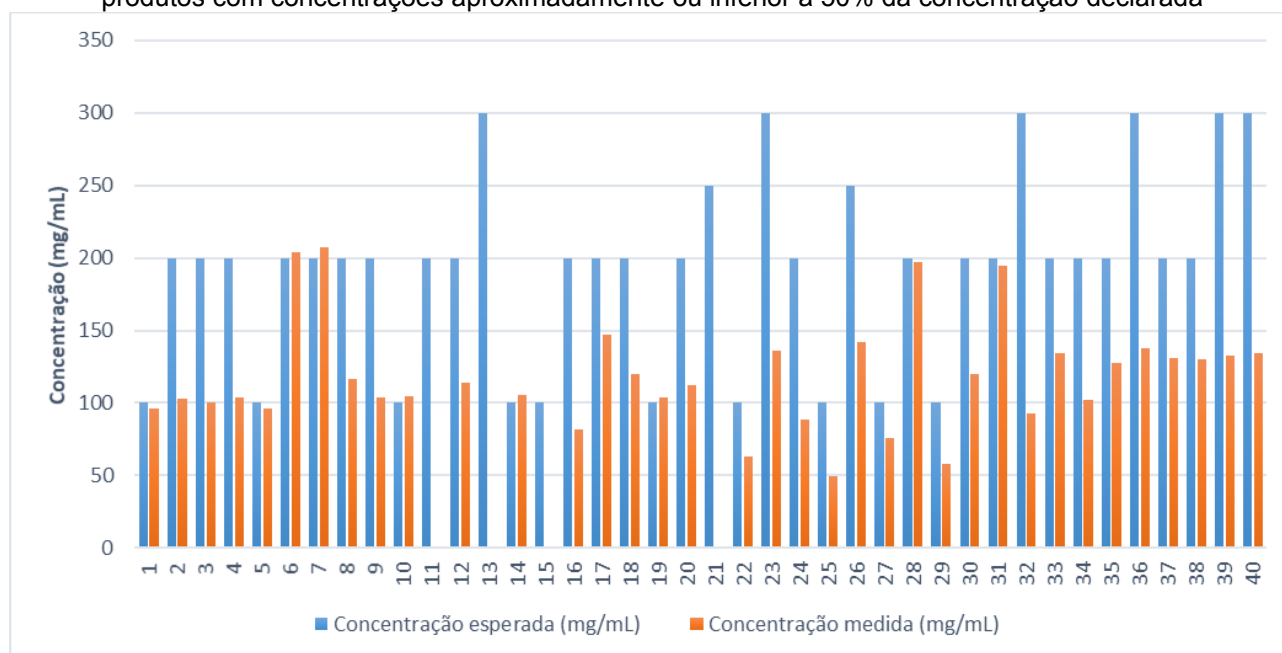


Fonte: dos autores, 2022.

A análise quantitativa demonstrou que 67,5% (27 amostras) dos anabolizantes comercializados de forma ilegal não possuem as concentrações declaradas do princípio ativo. Em sua totalidade, essas concentrações são inferiores às rotuladas, sendo que em 30% (nas amostras 23, 24, 25, 32, 36, 39 e 40) não chegam a 50% dos valores declarados (Gráfico 5) ou estão em níveis muito próximos a 50% dos valores declarados.

Weber *et al.* (2017) avaliaram 889 anabolizantes, dos quais apenas 41% encontravam-se com concentrações de acordo com o descrito no rótulo. Todavia, o desvio de qualidade aumenta quando é observado o resultado das análises de ampolas de decanoato de nandrolona, com 33 (67%) ampolas com concentrações inferiores às declaradas, em uma avaliação de 49 ampolas desse composto, corroborando nossos resultados. Em uma meta-análise, realizada pela revisão de artigos sobre controle de produtos falsificados, evidenciou que as substâncias contrabandeadas são encontradas em grande parte em subconcentrações, com estimativas médias geral de 67% dos achados (MAGNOLINI *et al.*, 2022).

Gráfico 5. Concentração medida e esperada dos anabolizantes a base de ésteres de nandrolona apreendidos no período de 2019 a 2020 pela PF na cidade de Foz do Iguaçu, com evidência para produtos com concentrações aproximadamente ou inferior a 50% da concentração declarada



Fonte: dos autores, 2022.

Fica evidente que este tipo de adulteração é por fator econômico, levando a economia do princípio ativo pelo produtor clandestino. Esse tipo de adulteração lesa o consumidor quanto à quantidade do princípio. Contudo, pensando em um cenário mais nocivo, não foram encontradas amostras com teores superiores ao declarado, o que resultaria em maiores danos à saúde como hepatotoxicidade, retenção hídrica, ginecomastia e desenvolvimento de tumores de próstata (CUNHA *et al.*, 2004).

Resultados diferentes foram obtidos por Neves e Caldas (2017), que avaliaram 158 anabolizantes apreendidos no Brasil entre 2011 a 2016. Este estudo observou somente cerca de 6% das amostras com teores inferiores ao declarados. Isto pode ser explicado pela diferenciação de origem dos produtos examinados quando se compara com os medicamentos descritos no presente trabalho. O trabalho de Neves, (2016), descreve a avaliação quantitativa de 08 amostras à base de nandrolona, todas com rótulos de laboratórios diferentes dos avaliados na presente pesquisa, demonstrando a variabilidade das amostras apreendidas e analisadas.

Ao se deparar com uma análise com níveis baixos de concentração de princípio ativo em formulações farmacêuticas, fica claro a ausência de controles rigorosos de produção desses itens, no que se refere à dosagem em desacordo com a descrição do

rótulo de cada produto. Da mesma maneira, em uma etapa posterior a própria composição do excipiente oleoso será examinada nos produtos aqui descritos, uma vez que composições inadequadas podem submeter o usuário à exposição de diversos possíveis contaminantes, podendo causar danos graves e até irreversíveis à saúde. Ademais, a aquisição de medicamentos com controle de qualidade inadequado e administração sem acompanhamento médico, pode causar danos musculares e abscessos intramusculares em função da presença de microrganismos, como demonstra um trabalho feito no Reino Unido onde os autores identificaram a presença de patógenos por cultura microbiológica (GRAHAM *et al.*, 2009).

Além da baixa concentração do princípio ativo descrito no rótulo, foi possível evidenciar a ausência de anabolizantes em duas amostras (11 e 21), sendo substituídos por uma mistura de excipientes oleosos inertes, como tocoferol, e ainda, a presença de outros anabolizantes em outras duas amostras (13 e 15), nas quais foi identificada a presença de drostanolona em frascos que descreviam possuir nandrolona.

O trabalho realizado por Krug *et al.* (2014) evidenciou um índice superior em adulterações dos anabolizantes apreendidos na Alemanha entre 2010 a 2013. Após avaliar produtos contrabandeados utilizando diversas técnicas, como cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta eficiência, cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas de alta eficiência e eletroforese em gel de poliacrilamida, obteve como resultados o índice de 54,4% (155 de um total de 285) das amostras com anabolizantes não descritos no rótulo. Tais resultados indicam a presença de uma mistura de anabolizantes não adequada e sem controle, oferecendo riscos à saúde do consumidor. Ainda nesse mesmo trabalho, os autores destacam que o grande número de apreensões está relacionado com um índice elevado de consumidores que estimulam o comércio ilegal.

Apesar da importância do assunto abordado no presente trabalho, existe uma baixa quantidade de publicações relacionadas à quantificação de anabolizantes em produtos apreendidos ou falsificados. Uma grande parte dos estudos faz referência à dosagem dessas substâncias em matrizes biológicas, ou como achados em outros produtos farmacêuticos. Um levantamento feito a respeito das principais publicações semelhantes a esse trabalho pode ser apresentado na tabela 5 que traz trabalhos realizados em diversos países, como República Tcheca, Suíça, Itália, Brasil, França e Alemanha, mostrando a preocupação de forma mundial a respeito da qualidade e do perfil dos produtos contrabandeados.

Tabela 5. Estudos publicados sobre avaliação de anabolizantes contrabandeados e falsificados

Referência	País, Método de análise, Número de anabolizantes analisados	Resultados
Tircova <i>et al.</i> , 2019	República Tcheca e Eslováquia, UHPLC-MS, N= 243 ¹ (oleosos)	139 (57%) dentro da concentração declarada; 009 (4%) acima da concentração; 041 (17%) abaixo da concentração; 014 (6%) com anabolizante não declarado no rótulo; 040 (16%) sem anabolizante na formulação.
Neves & Caldas, 2017	Brasil, CG-MS, N= 158 ¹ (oleosos)	055 (35%) dentro da concentração declarada; 065 (41%) sem anabolizante na formulação; 029 (18%) com anabolizante não declarado no rótulo; 009 (6%) abaixo da concentração.
Pellegrini <i>et al.</i> , 2012	Itália, CG-MS, N=07	001 (14%) com anabolizante não declarado no rótulo; 001 (14%) sem anabolizante na formulação; 005 (72%) abaixo da concentração.
Weber <i>et al.</i> , 2017	Suíça, LC-MS/MS; LC-HRMS; SDS-PAGE; ELICA, N= 889	361 (41%) dentro da concentração declarada; 204 (23%) concentração adulterada; 274 (31%) com anabolizante não declarado no rótulo; 050 (6%) sem anabolizante na formulação.
Krug <i>et al.</i> , 2014	Alemanha, LC-HRMS; CG-HRMS; PAGE, N= 288	130 (45%) com o anabolizante presente no rótulo; 158 (55%) com anabolizante não declarado no rótulo.
Fabresse <i>et al.</i> , 2021	França, CG-MS; LC-MS, N=54	022 (41%) com anabolizante não declarado no rótulo; 020 (37%) abaixo da concentração; 008 (15%) não quantificados; 004 (7%) dentro da concentração declarada – originais.
Ribeiro <i>et al.</i> , 2018	Brasil, 1 H NMR + CG-MS, N=24 ² (injetável)	020 (83%) com o anabolizante descrito no rótulo; 004 (17%) com adulterações.
Thevis <i>et al.</i> , 2008	Alemanha, CG-MS; LC-MS-MS; CG-MS-NPD, N=382 (injetável)	014 (37%) com adulterações; 024 (63%) com o anabolizante descrito no rótulo.

Fonte: dos autores, 2022.

E apesar de serem amostras de origem diferentes em alguns pontos os resultados se repetem, como por exemplo, as principais alterações dos anabolizantes, são sempre em relação a ausência de anabolizante, troca por outro princípio ativo ou concentrações inferiores ao rótulo. De todas as referências listadas e apresentadas, somente o estudo de Tircova; Bosakova & Kozlik, (2019) encontrou índices de anabolizantes acima das concentrações declaradas, com um baixo número de amostras (4%) com essa adulteração.

Há de se levantar a hipótese de que essa evidência é algo raro, justamente pela lucratividade da produção, na qual o fabricante evita desperdiçar o princípio ativo e economiza nas suas quantidades, a fim de produzir mais unidades, e consequentemente produz medicamentos com menor dosagem ou ausentes de princípio ativo. Visto que a comercialização de medicamentos falsificados encabeça a lista do mercado de bens ilícitos, gerando uma movimentação de 200 bilhões de dólares por ano, com valores superiores a produtos como maconha (140 bilhões de dólares/ano) e cocaína (80 bilhões de dólares/ano), deixando em evidência que a comercialização dos medicamentos falsificados está se tornando uma área em evidência e que está prosperando, e proporciona lucros maiores que qualquer droga ilícita clássica (O'HAGAN; GARLINGTON, 2018).

Ainda sobre o trabalho de Tircova; Bosakova & Kozlik, (2019), os autores relatam um achado diferente dos demais estudos mais robustos realizados anteriormente, com 57% dos 243 anabolizantes oleosos avaliados com a concentração dentro dos valores descritos no rótulo. Nesse estudo a variação dos produtos com uma concentração medida entre 80% a 120% da concentração declarado foi considerada dentro dos valores descritos, podendo ser uma das razões da divergência entre outros trabalhos. Um ponto importante a ser questionado, visto que não há em literaturas oficiais uma descrição adequada para as concentrações de produtos anabolizantes, sendo definido por cada autor os seus limites para estabelecer se o produto se encontra dentro ou fora das concentrações declaradas pelo fabricante.

A falta de um critério estabelecido por diretrizes nacionais e internacionais podem ser uma das razões para a diferença de resultados entre autores que avaliam quantitativamente os produtos apreendidos, visto que existe uma grande variação nos parâmetros adotados. Uma situação que pode exemplificar essa discussão, é que enquanto Tircova; Bosakova & Kozlik, (2019) consideraram as concentrações de amostras adequadas quando obtidos entre 80 a 120%, Weber *et al.* (2017) aceitaram uma

faixa mais ampla na avaliação dos seus produtos, considerando como produtos adequados ou dentro da concentração prevista de amostras com concentrações entre 50% a 200% da concentração declarada. A grande variação aceita, foi descrita pelos autores devido à incerteza da qualidade da calibração, decorrente dos resultados de um dos pontos da curva. Portanto, ao avaliar os resultados entre os autores, é importante destacar a faixa de aceitabilidade das concentrações obtidas em relação à concentração descrita.

Por fim, fica explícito que precisam ser realizadas mais pesquisas quantitativas a respeito dos produtos falsificados e estabelecidos controles mais rigorosos para evitar a comercialização e uso de produtos de origem clandestina, tendo em vista a grande possibilidade de riscos à saúde dos usuários.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos para a validação do método de quantificação dos ésteres de nandrolona por gc-em apresentaram-se satisfatórios para os parâmetros avaliados de linearidade, seletividade, dpr, recuperação e Id e Iq, segundo as normativas do inmetro (inmetro, 2020). Além do método ser seletivo, o preparo de amostra realizado Por meio extração sem derivatização, tornou o método mais rápido e simples, apropriado para análises rotineiras.

O alto número de apreensões de anabolizantes pela Polícia Federal, juntamente com a problemática do contrabando de substâncias na tríplice fronteira Brasil-Argentina-Paraguai, foram os impulsionadores desse trabalho. Pelos resultados obtidos pode-se observar um desvio na qualidade dos produtos comercializados de forma ilegal, fato que pode impactar a saúde e o resultado esperado pelo usuário de anabolizante.

A evidência de ausência de controle de qualidade na produção dos anabolizantes, sugere a produção em laboratórios clandestinos e sem monitoramento químico dos produtos. A maior alteração dos produtos (67% das amostras), foi apresentada em relação à concentração do anabolizante, com variações abaixo de 50% das concentrações esperadas.

Este trabalho serve como um alerta à população sobre a compra de produtos falsificados e os possíveis prejuízos à saúde, haja vista que não há como assegurar a confiabilidade, qualidade e eficácia dos produtos adquiridos de forma ilegal.

6. REFERÊNCIAS

ALTHOBITI, S. *et al.*. 2018. *Prevalence, Attitude, Knowledge, and Practice of Anabolic Androgenic Steroid (AAS) Use Among Gym Participants*. **Materia Socio Medica**, v. 30, n. 1, p. 49. Disponível em: <<http://www.ejmanager.com/fulltextpdf.php?mno=291044>>.

Acesso em: 03 jul. 2022.

AMES, J.; SOUZA, D. Z.. 2012. Falsificação de medicamentos no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 46, n. 01, p. 154–159, fev.. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102012000100019&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 25 mar. 2022.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PERITOS CRIMINAIS FEDERAIS - APCF. 2019. **Relatório da PF aponta aumento de perícias em medicamentos ilegais**. 19 ago. Disponível em: <<https://apcf.org.br/noticias/relatorio-da-pf-aponta-aumento-de-pericias-em-medicamentos-ilegais>>. Acesso em: 15 jun. 2022.

BERNAL, E.. 2014. *Limit of Detection and Limit of Quantification Determination in Gas Chromatography*. In: GUO, X. (Ed.). 2014. **Advances in Gas Chromatography**. 1^a ed. Rijeka: InTech, p. 52–81. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/advances-in-gas-chromatography/limit-of-detection-and-limit-of-quantification-determination-in-gas-chromatography>>. Acesso em: 31 ago. 2022.

BEZERRA, A. S. *et al.*. 2022. Riscos relacionados ao uso de anabolizantes esteróides para fins estéticos. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e18811729983, 20 maio. Disponível em: <<https://doi.org/10.33448/rsd-v11i7.29983>>. Acesso em: 17 jun. 2022.

BRASIL. DPRF. 2021. **PRF apreende mais de R\$ 1,1 milhão em anabolizantes no Paraná**. DPRF: Brasília, DF. Disponível em: <https://www.gov.br/prf/pt-br/noticias_anteriores/estaduais/parana/2021/dezembro/prf-

[apreende-mais-de-r-1-1-milhao-em-anabolizantes-no-parana](#)>. Acesso em: 03 jul. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. 2017. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº. 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 141, 24 de julho de 2017. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401>. Acesso em: 08 set. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. 2022. **Relatório de gestão – 2021**. ANVISA: Brasília, DF. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/gestao/relatorios-de-gestao/relatorio_2021_compressed.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. 2022. **Projeto-piloto de fiscalização de produtos irregulares apresenta os primeiros resultados - Português (Brasil)**. ANVISA: Brasília, DF. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/projeto-piloto-de-fiscalizacao-de-produtos-irregulares-apresenta-os-primeiros-resultados>>. Acesso em: 14 maio 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. 2022. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº. 607, de 23 de fevereiro de 2022. Dispõe sobre a atualização do Anexo I (Listas de substâncias entorpecentes, psicotrópicas, precursoras e outras sob controle especial) da Portaria SVS/MS nº. 344, de 12 de maio de 1998. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 041, 02 de março de 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/controlados/RDC607.pdf>> Acesso em: 08 jul. 2022.

BROWN-SÉQUARD, F. R. S.. 1889. *Note on the effects produced on man by subcutaneous injections of a liquid obtained from the testicles of animals*. **The Lancet**, v. 134, n. 3438, p. 105-107, jul.. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673600641181>>. Acesso em: 17 ago. 2022

CHO, S. H. *et al.*. 2015. *Determination of anabolic-androgenic steroid adulterants in*

counterfeit drugs by UHPLC-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 111, p. 138-146. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2015.03.018>>. Acesso em: 25 mar. 2022.

CUNHA, T. S. *et al.*. 2004. Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40, n. 2, p. 165-179. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-93322004000200005>>. Acesso em: 12 mai. 2022.

DÉGARDIN, K.; ROGGO, Y.; MARGOT, P.. 2014. *Understanding and fighting the medicine counterfeit market*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 87, p. 167-175. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2013.01.009>>. Acesso em: 14 jun. 2022.

ERNEY, D. R. *et al.*. 1993. *Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with splitless or hot on-column injection and flame photometric detection*. *Journal of Chromatography A*, v. 638, n. 1, p. 57-63, maio. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/002196739385007T>>. Acesso em: 05 set. 2022.

EVANS, N. A.. 1997. *Gym and tonic: a profile of 100 male steroid users*. *British Journal of Sports Medicine*, v. 31, n. 1, p. 54-58, 01 mar.. Disponível em: <<https://bjsm.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bjsm.31.1.54>>. Acesso em: 08 jul. 2022.

FABRESSE, N. *et al.*. 2021. *Analysis of pharmaceutical products and dietary supplements seized from the black market among bodybuilders*. *Forensic Science International*, v. 322, p. 110771. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.110771>>. Acesso em: 29 ago. 2022.

FRAGKAKI, A. G. *et al.*. 2009. *Structural characteristics of anabolic androgenic steroids contributing to binding to the androgen receptor and to their anabolic and androgenic activities*. *Steroids*, v. 74, n. 2, p. 172–197, fev.. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039128X08002754>>. Acesso em: 27 jun.

2022.

FREEMAN, E. R.; BLOOM, D. A.; MCGUIRE, E. J.. 2001. *A brief history of testosterone*. **Journal of Urology**, v. 165, n. 2, p. 371–373, fev.. Disponível em: <<https://bjsm.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bjsm.31.1.54>>. Acesso em: 17 jun. 2022.

FRUDE, E.; MCKAY, F. H.; DUNN, M.. 2020. *A focused netnographic study exploring experiences associated with counterfeit and contaminated anabolic-androgenic steroids*. **Harm Reduction Journal**, v. 17, n. 1, p. 42, 12 dez.. Disponível em: <<https://harmreductionjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12954-020-00387-y>>. Acesso em: 14 mai. 2022.

GRAHAM, M. R. *et al.*. 2009. *Counterfeiting in performance - and image-enhancing drugs*. **Drug Testing and Analysis**, v. 1, n. 3, p. 135-142, mar.. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dta.30>>. Acesso em: 13 out. 2022.

ICH. 2022. **Harmonised Guideline: Validation of analytical procedures Q2 (R2)**. Amsterdam (Netherlands): *European Medicines Agency*. 31 mar. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf>. Acesso em: 08 set. 2022.

HARTGENS, F.. 2004. *Effects of androgenic-anabolic steroids on apolipoproteins and lipoprotein (a)*. **British Journal of Sports Medicine**, v. 38, n. 3, p. 253-259, 01 jun.. Disponível em: <<https://bjsm.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bjsm.2003.000199>>. Acesso em: 14 maio 2022.

HURTADO, R. L.; LASMAR, M. C.. 2014. Medicamentos falsificados e contrabandeados no Brasil: panorama geral e perspectivas de combate ao seu consumo. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 4, p. 891-895, abr.. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2014000400891&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 14 jun. 2022.

INMETRO. 2016. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**: documento de

caráter orientativo: DOQ-CGCRE-008: Revisão 05. Brasília: INMETRO. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=5&cod_uo_numeracao=00774&num_documento=008>. Acesso em: 08 ago. 2022.

KAHAL, A. *et al.*. 2020. *Abuse of androgenic anabolic drugs with “Cycling” induces hepatic steatosis in adult male mice*. **Steroids**, v. 155, n. set. 2019, p. 108574. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.108574>>. Acesso em: 14 jun. 2022.

KELLY, D. M.; JONES, T. H.. 2015. *Testosterone and obesity*. **Obesity Reviews**, v. 16, n. 07, p. 581-606, jul.. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/obr.12282>>. Acesso em: 14 jun. 2022.

KICMAN, A. T.. 2008. *Pharmacology of anabolic steroids*. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 03, p. 502-521, jun.. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1038/bjp.2008.165>>. Acesso em: 07 mai. 2022.

KICMAN, A. T.; GOWER, D. B.. 2003. *Anabolic steroids in sport: biochemical, clinical and analytical perspectives*. **Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine**, v. 40, n. 04, p. 321-356, 01 jul.. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1258/000456303766476977>>. Acesso em: 25 mar. 2022.

KOZLIK, P.; TIRCOVA, B.. 2016. *Development of the fast, simple and fully validated high performance liquid chromatographic method with diode array detector for quantification of testosterone esters in an oil-based injectable dosage form*. **Steroids**, v. 115, p. 34-39. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2016.08.008>>. Acesso em: 25 mar. 2022.

KRUG, O. *et al.*. 2014. *Identification of black market products and potential doping agents in Germany 2010-2013*. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 70, n. 11, p. 1303-1311, 30 nov.. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00228-014-1743-5>>. Acesso em: 28 ago. 2022.

LIU, J.-D.; WU, Y.-Q.. 2019. *Anabolic-androgenic steroids and cardiovascular risk*. **Chinese Medical Journal**, v. 132, n. 18, p. 2229–2236, 20 set.. Disponível em: <<https://journals.lww.com/10.1097/CM9.0000000000000407>>. Acesso em: 12 ago. 2022.

MAGNOLINI, R. *et al.*. 2022. *Fake anabolic androgenic steroids on the black market – a systematic review and meta - analysis on qualitative and quantitative analytical results found within the literature*. **BMC Public Health**, p. 01-15. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12889-022-13734-4>>. Acesso em: 16 out. 2022.

MARCOS, J.; POZO, O. J.. 2016. *Current LC–MS methods and procedures applied to the identification of new steroid metabolites*. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 162, p. 41-56. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.12.012>>. Acesso em: 13 jun. 2022.

MAZZARINO, M.; ORENGIA, M.; BOTRÈ, F.. 2007. *Application of fast gas chromatography/mass spectrometry for the rapid screening of synthetic anabolic steroids and other drugs in anti-doping analysis*. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 21, p. 4117-4124. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.12.012>>. Acesso em: 13 jun. 2022.

MBUGHUNI, M. M.; JANNETTO, P. J.; LANGMAN, L. J.. 2016. *Recent Developments in the Clinical Application of Mass Spectrometry Mass spectrometry applications for toxicology*. **The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 27, n. 04, p. 2016-2043. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5282913/>>. Acesso em: 17 out. 2022.

MORAES, T. P. B. de.. 2015. *Anabolizantes nas buscas da web: um estudo sobre o interesse sazonal por esteroides anabolizantes no Brasil*. **Revista Jurídica Luso-Brasileira**, v. 1, n. 2015, p. 1979-2007. Disponível em: <https://www.cidp.pt/revistas/rjlb/2015/1/2015_01_1979_2007>. Acesso em: 14 maio 2022.

NATIONAL INSTITUTE ON DRUG ABUSE - NIDA. 2021. *Steroids and Other Appearance and Performance Enhancing Drugs (APEDs)*. Ago.. Disponível em:

<https://nida.nih.gov/publications/research-reports/steroids-other-appearance-performance-enhancing-drugs-apedds/introduction>>. Acesso em: 15 maio 2022

NEVES, D. B.. 2016. **Avaliação das falsificações e adulterações de medicamentos e suplementos alimentares com esteróides anabolizantes e cafeína, e desenvolvimento de métodos analíticos**. Tese (Doutorado) – PPG-CF (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas), UnB (Universidade de Brasília), Brasília. Disponível em: <<https://repositorio.unb.br/handle/10482/22399>>. Acesso em: 04 mai. 2022.

NEVES, D. B. DA J.; CALDAS, E. D.. 2017. *GC–MS quantitative analysis of black market pharmaceutical products containing anabolic androgenic steroids seized by the Brazilian Federal Police*. **Forensic Science International**, v. 275, p. 272-281, jun.. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073817301275>>. Acesso em: 13 jun. 2022.

NEVES, D. B. J.; MARCHETI, R. G. A.; CALDAS, E. D.. 2013. *Incidence of anabolic steroid counterfeiting in Brazil*. **Forensic Science International**, v. 228, n. 1-3, p. e81-e83. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.02.035>>. Acesso em: 16 fev. 2022.

NIEDFELDT, M. W.. 2018. *Anabolic Steroid Effect on the Liver*. **Current Sports Medicine Reports**, v. 17, n. 3, p. 97-102, mar.. Disponível em: <<https://journals.lww.com/00149619-201803000-00008>>. Acesso em: 14 mai. 2022.

O'HAGAN, A.; GARLINGTON, A.. 2018. *Counterfeit drugs and the online pharmaceutical trade, a threat to public safety*. **Foresic Research & Criminology International Journal**, v. 6, n. 3, p. 151-158, 22 maio. Disponível em: <<https://journals.lww.com/00149619-201803000-00008>>. Acesso em: 08 jul. 2022.

OLIVEIRA, D. M. M. C. DE; IBANEZ, J. F.. 2020. *Use of nandrolone decanoate as bone growth stimulator in humerus fracture with delayed union*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 4, p. 3503-3507. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJAER/article/view/19454/15614>>. Acesso

em: 14 jun. 2022.

OLIVEIRA, L. L. DE; CAVALCANTE NETO, J. L.. 2018. Fatores sociodemográficos, perfil dos usuários e motivação para o uso de esteroides anabolizantes entre jovens adultos. **Revista Brasileira de Ciências do Esporte**, v. 40, n. 3, p. 309-317, jul.. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0101328916302451>>. Acesso em: 14 jun. 2022.

PATANÈ, F. G. *et al.*. 2020. *Nandrolone decanoate: use, abuse and side effects*. **Medicina**, v. 56, n. 11, p. 606-611, nov.. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/medicina56110606>>. Acesso em: 14 maio 2022.

PELLEGRINI, M. *et al.*. 2017. *Non-allowed Pharmacologically Active Substances in Physical and Sexual Performance Enhancing Products*. **Current Neuropharmacology**, v. 15, n. 05, p. 67-72, 15 jun.. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/medicina56110606>>. Acesso em: 19 jun. 2022.

PHARMACEUTICAL SECURITY INSTITUTE. 2021. **Measuring Pharma Crime**. Vienna: Pharmaceutical Security Institute. Disponível em: <<https://www.psi-inc.org/pharma-crime>>. Acesso em: 07 maio 2022.

RAPOSO, F.. 2016. *Evaluation of analytical calibration based on least-squares linear regression for instrumental techniques: a tutorial review*. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 77, p. 167-185, mar.. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/medicina56110606>>. Acesso em: 31 ago. 2022.

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.. 2008. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Quim. Nova**, v. 31, n. 01, p. 164-171. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/medicina56110606>>. Acesso em: 14 jun. 2022.

RIBEIRO, M. V. DE M. *et al.*. 2018. *¹H NMR determination of adulteration of anabolic steroids in seized drugs*. **Steroids**, v. 138, p. 47-56. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2018.07.002>>. Acesso em: 31 ago. 2022.

SCHWINGEL, P. A. *et al.*. 2015. *Recreational Anabolic-Androgenic Steroid Use Associated With Liver Injuries Among Brazilian Young Men*. **Substance Use & Misuse**, v. 50, n. 11, p. 1490-1498, 19 set.. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10826084.2015.1018550>>. Acesso em: 12 maio 2022.

SCIENTIFIC WORKING GROUP FOR FORENSIC TOXICOLOGY - SWGTOX.. 2013. *Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology*. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 37, n. 7, p. 452-474, 01 set.. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jat/article-lookup/doi/10.1093/jat/bkt054>>. Acesso em: 01 set. 2022.

SEVERO, C. B. *et al.*. 2013. *Increased atherothrombotic markers and endothelial dysfunction in steroid users*. **European Journal of Preventive Cardiology**, v. 20, n. 2, p. 195-201, 03 abr.. Disponível em: <<https://academic.oup.com/eurjpc/article/20/2/195-201/5927978>>. Acesso em: 12 jul. 2022.

SHAHIDI, N.. 2001. *A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids*. **Clinical Therapeutics**, v. 23, n. 9, p. 1355-1390, set.. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149291801801144>>. Acesso em: 20 jun. 2022.

SILVA, P. R. P. DA; DANIELSKI, R.; CZEPIELEWSKI, M. A.. 2002. Esteróides anabolizantes no esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 8, n. 6, p. 235-243, dez.. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922002000600005&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 30 ago. 2022.

STANKUS, T.. 1996. *Drugs and Poisons*. **The Serials Librarian**, v. 27, n. 2–3, p. 87-102, 08 abr.. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922002000600005&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 16 mai. 2022.

TAUCHEN, J. *et al.*. 2021. *Medicinal use of testosterone and related steroids revisited*. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 1032, 15 fev.. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420->

[3049/26/4/1032](#)>. Acesso em: 25 maio 2022.

TEBAS, B. A.; SILVA, M. G.; GONTIJO, E. E. L.. 2012. Avaliação do Uso de Anabolizantes em Academias de Gurupi, Tocantins. **Revista Movimenta**, v. 5, n. 3, p. 209-216. Disponível em: <https://www.revista.ueg.br/index.php/movimenta/article/view/7061/4831>>. Acesso em: 13 ago. 2022.

TIRCOVA, B.; BOSAKOVA, Z.; KOZLIK, P.. 2019. *Development of an ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of anabolic steroids currently available on the black market in the Czech Republic and Slovakia*. **Drug Testing and Analysis**, v. 11, n. 2, p. 355-360, fev.. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dta.2541>>. Acesso em: 13 mar. 2022.

United Nations Office on Drugs and Crime Web - UNODC. 2018. **Manufacturing of and trafficking in falsified medical products**. [s.l.]: UNODC. Disponível em: <https://www.unodc.org/e4j/en/organized-crime/module-3/key-issues/falsified-medical-products.html>>. Acesso em: 03 jul. 2022.

VAN POUCKE, C. *et al.*. 2007. *Determination of anabolic steroids in dietary supplements by liquid chromatography–tandem mass spectrometry*. **Analytica Chimica Acta**, v. 586, n. 01-02, p. 35-42, mar.. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267006019994>>. Acesso em: 04 abr. 2022.

VANATTA, L. E.; COLEMAN, D. E.. 2007. *Calibration, uncertainty, and recovery in the chromatographic sciences*. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, n. 1-2, p. 47-60, jul.. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967307003123>>. Acesso em: 25 abr. 2022.

VENKATESAN, P.; VALLIAPPAN, K.. 2014. *Impurity profiling: Theory and practice*. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 6, n. 7, p. 254-259. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/320755952_IMPURITY_PROFILING_OVERVIEW_ON_IMPURITY_PROFILING_AND_REPORTING_METHODOLOGIES_ADOPTED_BY_UNITED_STATES_AND_EUROPE>. Acesso em: 12 ago. 2022.

WEBER, C. *et al.*. 2017. *Qualitative and semiquantitative analysis of doping products seized at the Swiss border*. **Substance Use and Misuse**, v. 52, n. 6, p. 742-753. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/10826084.2016.1263665>>. Acesso em: 05 ago. 2022.

WILSON, J. D.. 1988. *Androgen Abuse by Athletes*. **Endocrine Reviews**, v. 09, n. 02, p. 181-199, maio. Disponível em: <<https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/edrv-9-2-181>>. Acesso em: 01 set. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. 2006. **WHO launches taskforce to fight counterfeit drugs**. Genebra (Switzerland): WHO. Disponível em: <<https://www.scielosp.org/article/bwho/2006.v84n9/689-690/>>. Acesso em: 12 maio. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. 2018. **Substandard and falsified medical products**. Genebra (Switzerland): WHO. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/substandard-and-falsified-medical-products>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. 2020. **The WHO member state mechanism on substandard and falsified medical products: how WHO member states work together to safeguard access to safe and effective medicines, vaccines and other medical products**. Genebra (Switzerland): WHO. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MVP-EMP-SAV-2019.04>>. Acesso em: 16 set. 2022b.

WU, C.; KOVAC, J. R.. 2016. *Novel Uses for the Anabolic Androgenic Steroids Nandrolone and Oxandrolone in the Management of Male Health*. **Current Urology Reports**, v. 17, n. 10, p. 1-7. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11934-016-0629-8>>. Acesso em: 13 mar. 2022.

APÊNDICES

Apêndice A – Dados da Curva Analítica

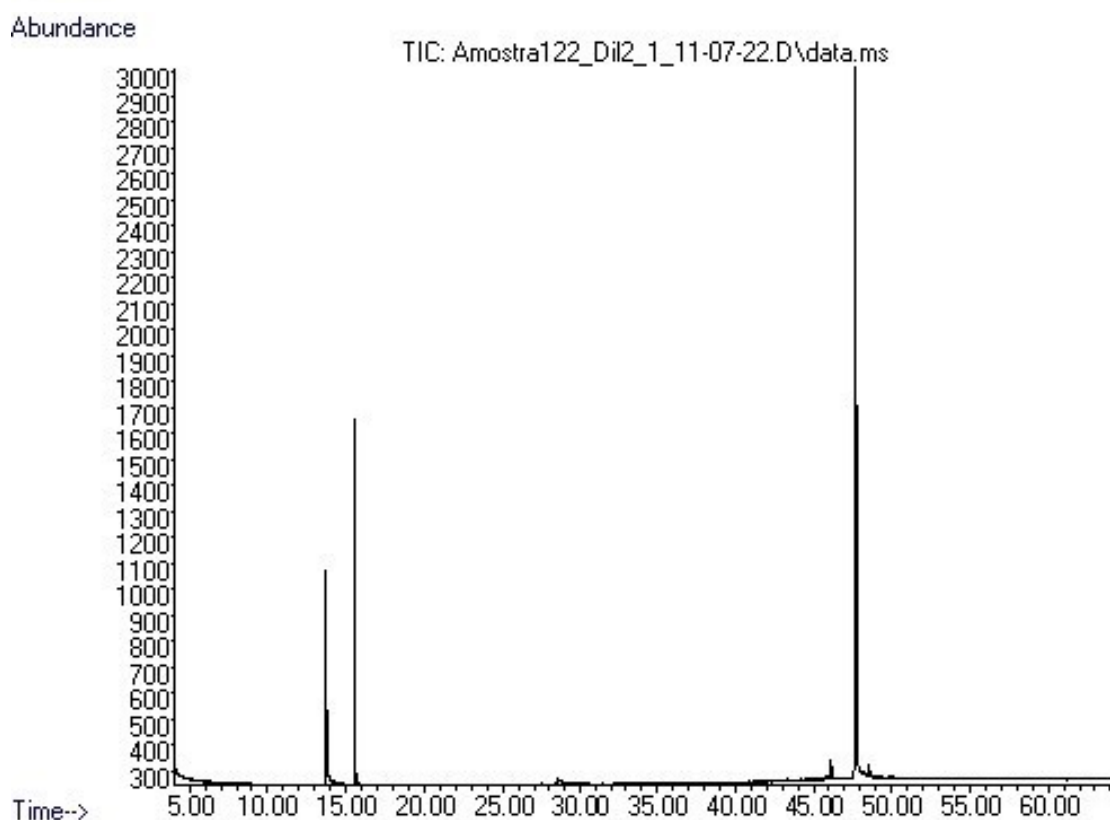
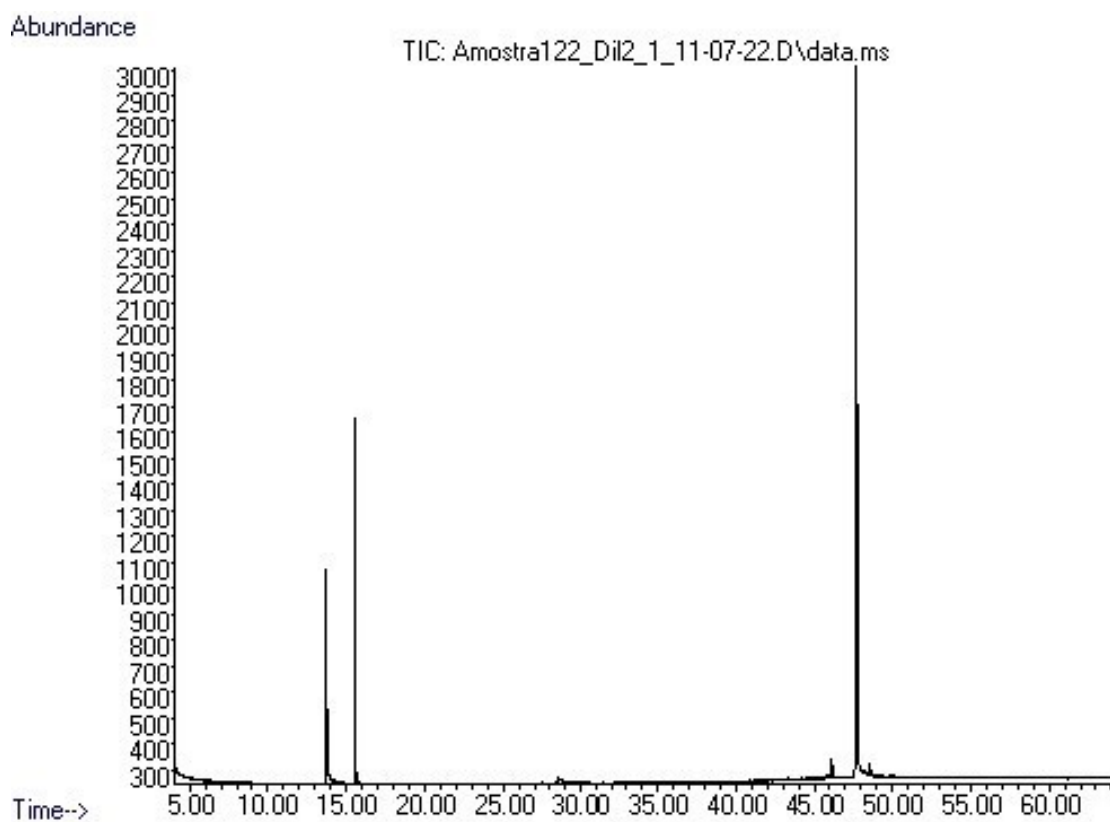
Quadro 1. Curva analítica em solvente acetato de etila/acetona

Dados da Curva					
Concentração	Sinal Analítico	Erro Experimental no Sinal Analítico			
		Média	no.	Desvio Padrão DPR(%)	
Nível 1	1A	200,0000	1,1371		
	1B	200,0000	0,8748		
	1C	200,0000	1,1354		
	1D	200,0000	0,9550		
	1E	200,0000	1,1421	1,0489	5,00
Nível 2	2A	250,0000	2,1154		
	2B	250,0000	2,5136		
	2C	250,0000	2,3941		
	2D	250,0000	1,9854		
	2E	250,0000	1,9987	2,2014	5,00
Nível 3	3A	300,0000	2,5342		
	3B	300,0000	2,5317		
	3C	300,0000	2,8976		
	3D	300,0000	2,9481		
	3E	300,0000	2,6061	2,7035	5,00
Nível 4	4A	350,0000	3,6514		
	4B	350,0000	3,2214		
	4C	350,0000	3,4215		
	4D	350,0000	3,8145		
	4E	350,0000	3,7547	3,5727	5,00
Nível 5	5A	400,0000	4,8053		
	5B	400,0000	4,6688		
	5C	400,0000	4,5640		
	5D	400,0000	4,9210		
	5E	400,0000	4,4580	4,6834	5,00
Nível 6	6A	450,0000	5,3124		
	6B	450,0000	5,4115		
	6C	450,0000	6,1420		
	6D	450,0000	5,6842		
	6E	450,0000	5,6789	5,6458	5,00

Fonte: dos autores, 2022.

Apêndice B – Cromatograma de amostras

Figura 1. Cromatograma por método SIM de amostras analisadas



Fonte: dos autores, 2022.