

HELSINGIN YLIOPISTO – HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Laitos – Institution Farmasian laitos	
Tekijä – Författare Antti Alaranta			
Työn nimi – Arbetets titel LC-MS-menetelmien soveltuvuuden selvittäminen vapaana virtsaan erittyvien anabolisten steroidien dopingkäytön osoittamiseksi			
Oppiaine – Läroämne Farmaseuttinen kemia			
Työn laji – Arbetets art Pro gradu -tutkielma		Aika – Datum Marraskuu 2000	Sivumäärä – Sidoantal 60
<p>Tiivistelmä – Referat</p> <p>Anaboliset-androgeeniset steroidit ovat testosteronin synteettisiä johdoksia. Kansainvälinen olympiakomitea (KOK) kielsi niiden käytön vuonna 1974 mahdollisten urheilusuoritusta parantavien vaikutusten takia. Dopingaineiden käyttöä valvotaan analysoimalla urheilijoilta otetut virtsanäytteet KOK:n akkreditoimissa laboratorioissa. Nykyään dopinganalyysit tehdään enimmäkseen GC-MS-menetelmillä.</p> <p>Suurin osa anabolisista steroideista metaboloituu runsaasti ja erittyy virtsaan glukuronidikonjugaatteina. Kaikki steroidit tai niiden metaboliitit eivät kuitenkaan erity konjugoituneina. Näin ollen voidaan virtsaan erittyneet steroidit tai niiden metaboliitit jakaa konjugoitumattomina eli vapaina ja konjugoituneina erittyviin yhdisteisiin. Ainakin osittain konjugoitumattomina erittyvät esimerkiksi oksandroloni, 4-klooridehydrometyylitestosteroni, metandienoni, fluoksimesteroni sekä stanotsololi. Tällä hetkellä yleinen ja tehokkain analyysimenetelmä anabolisten steroidien dopingkäytön osoittamiseksi on tutkia vapaana ja konjugoituneena erittyvät steroidit erikseen.</p> <p>Erikoistyön tarkoituksena oli selvittää alustavasti, soveltuuko nestekromatografis-massaspektrometrinen (LC-MS) -menetelmä vapaana virtsaan erittyvien anabolisten steroidien seulontamenetelmäksi. Menetelmän etuna käytössä olevaan kaasukromatografis-massaspektrometriseen (GC-MS) -menetelmään verrattuna on nopeampi ja vähemmän välivaiheita sisältävä näytteiden esikäsittely. LC-MS-menetelmää käytettäessä virhelähteiden määrä vähenee ja mahdollinen näytehävikki on pienempää, jolloin analyysin pitoisuudet näytteessä jäävät suuremmiksi ja helpommin havaittaviksi. Työssä kehitettiin ja optimoitiin kaksi LC-MS-menetelmää, joista toisessa ionisointimenetelmänä käytettiin sähkösumutus-ionisaatiota (ESI) ja toisessa ilmanpaine-kemiallista ionisaatiota (APCI). Malliyhdisteinä käytettiin oksandrolonia, stanotsololin metaboliittia 3'-hydroksistanotsololia ja 4-klooridehydrometyylitestosteronin metaboliittia 6β-hydroksi-4-klooridehydrometyylitestosteronia, jotka edustavat rakenteellisesti erilaisia virtsaan vapaana erittyviä steroidimetaboliitteja.</p> <p>Kehitetyllä menetelmällä tutkittiin optimoiduissa olosuhteissa eluenttiin ja virtsaan valmistettuja standardeja. Menetelmien toimivuus osoitettiin myös tutkimalla todellisia näytteitä, jotka oli saatu keräämällä koehenkilöiltä virtsaa 18-48 tunnin kuluttua oksandrolonin, stanotsololin ja 4-klooridehydrometyylitestosteronin oraalisen annostelun jälkeen.</p> <p>Molemmat tutkittavat analyysimenetelmät osoittautuivat spesifisiksi, mutta havaintoalarajan kohdalla päästiin LC-ESI-MS/MS-menetelmällä pienempiin pitoisuuksiin kuin LC-APCI-menetelmällä. LC-ESI-MS/MS-menetelmällä päästiin tutkittavien yhdisteiden kohdalla vähintään 3 ng/ml:n virtsapitoisuutta vastaaviin pitoisuuksiin. Tutkimustulosten perusteella voidaan LC-ESI-MS/MS-menetelmää pitää varsin lupaavana seulonta-menetelmänä vapaana virtsaan erittyvien anabolisten steroidien dopingkäytön toteamiselle.</p>			
Avainsanat – Nyckelord LC-MS, Sähkösumutus ionisaatio, Ilmanpaine-kemiallinen ionisaatio, Doping, Metabolia, Oksandroloni, 4-kloori-dehydrometyylitestosteroni, Stanotsololi			
Säilytyspaikka – Förvaringställe Farmasian laitos, farmaseuttisen kemian osasto			
Muita tietoja			