

근육 강화제 복용에 의한 내인성 스테로이드 프로파일 평가

李宜和 · 崔萬豪 · 金泰旭¹ · 鄭鳳哲*
한국 과학 기술 연구원 도핑컨트롤 센터
¹국립 안성 산업대학교 환경 공학과
(1997. 5. 29 접수)

Evaluation of Endogeneous Steroids Profile after Administration of Anabolic Steroids

Seon Hwa Lee, Manho Choi, Taewook Kim¹, and Bong Chul Chung*
Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology,
P. O. Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea
¹Ansung National University, Department of Environmental Engineering,
Ansung, Kyunggi-do 456-749, Korea
(Received May 29, 1997)

요 약. 현재 시행되고 있는 GC/MS를 이용한 금지 약물 분석법을 이용하여 신체의 성장, 분화 및 대사에 있어서 중요한 역할을 하고 있으며, 근육 강화제의 복용이 체내 농도에 영향을 미치는 것으로 알려진 내인성 스테로이드의 동시 분석 조건을 설정하였다. 그 결과 72.33%~94.54%의 회수율을 얻었으며, within-a-day 및 day-to-day 분석에서의 RSD 값은 각각 1.43%~10.86%, 0.96%~9.98%로 측정되었다. 이 방법을 이용하여 9가지 근육 강화제를 정상인에게 투여한 후, 시간에 따라 소변으로 배설되는 근육 강화제의 농도와 8종의 주요 내인성 스테로이드의 농도를 동시에 정량함으로써, 한국인을 기준으로한 근육 강화제의 농도 변화에 따른 내인성 스테로이드의 농도 및 그들간의 농도 비율의 변화 경향을 조사하였다.

ABSTRACT. The endogenous steroids from human urine were simultaneously analyzed by selected ion monitoring method of GC/MS which is currently used for the doping procedure, together with anabolic steroids. The recovery range of this method was 72.33%~94.54% and the RSD values of precision and accuracy test were 1.43%~10.86%, 0.96%~9.98%, respectively. Using this method steroids profile was investigated in the urine of male volunteers after oral administration of nine anabolic steroids banned by IOC (International Olympic Committee). Urinary endogenous steroids level was varied specifically according to the excretion tendency of the metabolites of anabolic steroids.

서 론

운동선수들이 근육강화와 체력증진을 목적으로 합성 스테로이드(anabolic steroid)를 사용하기 시작한 것은 1950년대부터이다.¹ 그러나 이를 IOC(국제 올림픽 위원회)에서 금지 약물로 규정하여 규제를 가하기 시작한 것은 1970년대 부터이며, 현재 사용되고 있는 약물의 종류는 계속적으로 증가되고 있다. 이에 따라 추가 되는 금지 약물들을 검정하기 위한 연구 및 노력은 끊임없이 계속되고 있다.

합성 스테로이드는 주로 내분비학적 치료²를 위해

외부로부터 투여되며, 체외로 배설되는 양이 적고 금지 약물 중에서도 분석에 어려움이 많을 뿐만아니라 내인성 스테로이드들의 체내 농도에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.^{3,5} 따라서 인체내 내인성 스테로이드를 정량함으로써 약물검사의 보조자료로 삼으려는 노력이 각국의 관련 실험실에서 시도되고 있으며 많은 양의 자료들이 이미 축적되어 있다. 그러나 내인성 스테로이드의 농도는 인종간에 차이를 나타내고, 근육 강화제에 의한 내인성 스테로이드들의 농도 변화 또한 인종에 따라 다를것이라 예상되

므로 한국인을 기준으로한 연구가 필요한 실정이다.

지금까지 내인성 스테로이드의 분석은 대사 질환의 진단을 목적으로 주로 colorimetry, Radioimmunoassay,⁶ HPLC 방법 등이 이용되어왔다. 그러나 이 방법들은 검출 한계가 높고 구조가 비슷한 스테로이드 대사체(metabolite)들의 분리가 불가능하므로, 현재에는 한번의 시료 처리로 여러개의 내인성 스테로이드들을 nanogram 수준까지 동시에 정량할 수 있고 간접 물질들을 효과적으로 배제할 수 있는 GC/MS 방법이 스테로이드 분석에 있어서 가장 우수한 것으로 알려져 있다.^{7,8}

이에 본 연구에서는 GC/MS를 이용한 금지 약물 분석법⁹을 내인성 스테로이드 분석에 적용하여 합성 스테로이드와 동시에 profile 할 수 있는 조건을 확립하였다. 또한 금지 약물인 9종의 합성 스테로이드(nandrolone, boldenone, norethandrolone, methenolone, mesterolone, methyltestosterone, oxymetholone, clostebol, bolasterone)를 정상인 남자에게 투여한 후 소변에 존재하는 8종의 내인성 스테로이드(androsterone, etiocholanolone, dehydroepiandrosterone, androstenedione, epitestosterone, testosterone, 11 β -hydroxyandrosterone, 11 β -hydroxyetiocholanolone)의 농도 및 그 상대적인 비율을 분석함으로써 일부 운동선수들이 남용하는 근육 강화제가 인체내 내분비 계통에 미치는 영향을 조사하고, 이를 기초로 금지약물 복용 여부를 간접적으로 판단하는 자료로서 이용하고자 하였다.

실 험

생체 시료의 수집

실험에 사용한 뇨 시료는 건강한 성인 남자 9명

(27세~48세)에게 각각 1종의 근육강화제를 복용하게 하여 2~6일 동안 채집하였으며, 분석전 까지 -20°C에서 보관하였다. 근육 강화제의 종류 및 투여량은 Table 1에 정리하여 나타내었다.

기기 및 시약

측정 기기 및 작동 조건. 본 실험에서 사용한 분석기기는 Hewlett-Packard 5890A Gas Chromatography에 direct interface 로 연결된 5989B Mass Engine을 사용하였다. 분리관은 Ultra-1(길이 17 m, 내경 0.20 mm, 필름두께 0.11 μ m)를 사용하였으며, 분리관의 온도는 180°C 에서 240°C까지 4°C/min으로 올리고, 다시 15°C/min 으로 320°C까지 올려 5분간 유지시켰다. 주입기 온도는 300°C, detector 온도는 300°C, 운반 기체 헬륨의 유속은 0.45 mL/min, 그리고 주입 방법은 split mode(1:10)로 설정하였다.

모든 시료는 HP 7673A autosampler를 사용하여 GC에 주입하였으며 data system으로는 HP Vectra 486 PC를 사용하여 HP G1034C MS Chemstation에서 분석하였고 chromatogram과 mass spectrum은 HP LaserJet 4V Printer 로 부터 얻었다.

시 약. 본 연구에 사용된 내인성 스테로이드인 androsterone, etiocholanolone, dehydroepiandrosterone, androstenedione, epitestosterone, testosterone, 11 β -hydroxyandrosterone, 11 β -hydroxyetiocholanolone과 내부 표준 물질로 사용된 methyltestosterone은 Sigma 사(미국) 특급 시약을 사용하였으며, 근육강화제로 쓰인 nandrolone, boldenone, norethandrolone, methenolone, mesterolone, methyltestosterone, oxymetholone, clostebol, bolasterone은 국내의 각 약품제조회사로부터 구입하였다.

전처리에 사용된 시약으로 Serdolit AD-2 resin(150-

Table 1. The Physique and dosage of volunteers

Personal Name	Sex	Age (year)	Stature (cm)	Weight (kg)	Dose (mg)	Drug Ingredient
EG	M	31	174	68	25	Boldenone
YY	M	35	168	56	28	Nandrolone
CN	M	40	164	75	15	Methenolone
JP	M	48	165	63	25	Mesterolone
PS	M	35	175	60	25	Methyltestosterone
PJ	M	48	165	63	20	Bolasterone
LT	M	31	171	57	30	Clostebol
CM	M	30	176	64	20	Norethandrolone
PH	M	27	169	64	30	Oxymetholone

200 μm)을 독일 Serva에서 구입하여 acetone 및 methanol로 세척하고 증류수로 침강시켜 활성화하여 사용하였다. β -Glucuronidase는 *E. Coli*로부터 추출한 것을 독일 Bohringer Mannheim 사로부터 구입하였다.

유도체화 시약인 MSHFB(*N*-methyl-*N*-trimethylsilyl-heptafluorobutyramide)는 독일 Machery-Nagel사에서 구입하였고, MSTFA (*N*-methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoroacetamide), TMSIm(trimethylsilylimidazole), TMSI(trimethyliodosilane) 및 TMCS(trimethylchlorosilane)을 Sigma 사(미국)로부터 구입하였다.

실험방법

스테로이드 profiling을 위한 전처리 과정. 직경 0.5 cm의 파스퇴르피펫에 충분히 세척된 Serdolit

AD-2 수지를 약 2 cm정도 채운 후 원심 분리한 뇨 시료 5 mL를 흘려주고 내부 표준 물질인 methyltestosterone 10 ppm 용액을 20 μL 넣어 주었다. 흡착된 뇨 시료를 동량의 증류수로 씻어준 후, 메탄올 1 mL로 3회에 걸쳐 추출하였다. 메탄올을 증발시킨 후, 그 잔사에 0.2 M phosphate buffer(pH 7.0) 1 mL와 *E. Coli*에서 추출한 β -glucuronidase 25 μL 를 넣고 37°C에서 24시간 또는 50°C에서 1시간 동안 가수분해 시켰다. 가수분해 후 potassium carbonate 100 mg 정도를 가하여 pH를 8~9로 맞추고 diethylether 5 mL로 추출하였다. 이 혼합 용액을 2,500 rpm에서 5분간 원심분리하고 ether층을 분리하여 건조시킨 후 TMS-enol-ether 유도체를 만들어 GC/MS에 1~2 μL 를 주입하였다.

Table 2. Characteristic ions and relative retention times (RRT) of major metabolite of anabolic steroids and endogenous steroids as trimethylsilyl (TMS) derivatives

Compounds	Characteristic ion (m/z)	RRT
<i>ANABOLIC STEROIDS (Major Metabolite)</i>		
Boldenone (5 β -androst-1-en-17 β -ol-3-one)	194, 432, 417	0.653
Nandrolone (5 α -estrane-3 α -ol-17-one)	405, 420	0.673
Methenolone (1-methylen-5 α -androstane-3 α -ol-17-one)	432, 431, 446	0.802
Mesterolone (1 α -methyl-5 α -androstane-3 α -ol-17-one)	448, 433	0.831
Methyltestosterone (17 α -methyl-5 α -androstane-3 α , 17 β -diol)	143, 435	0.838
Bolasterone (7 α , 17 α -dimethyl-5 β -androstane-3 α , 17 β -diol)	143, 284, 374	0.927
Clostebol (4-chloroandrost-4-en-3 α -ol-17-one)	466, 451, 468	0.934
Norethandrolone (17 α -ethyl-5 α -estrane-3 α , 17 β -diol)	421, 157, 331	0.936
Oxymetholone (2z-hydroxymethyl-17 α -methyl-5 α -androstane-3z, z, 17 β -triol)	550, 495, 143	1.256
<i>ENDOGENOUS STEROIDS (Abbreviation)</i>		
Androsterone (A)	<u>434</u> , 419, 329	0.730
Etiocholanolone (E)	<u>434</u> , 149, 329	0.740
Dehydroepiandrosterone (DHEA)	<u>432</u> , 417, 327	0.815
Epitestosterone (epiT)	<u>432</u> , 417, 327	0.843
Androstenedione (An)	<u>430</u> , 417, 325	0.874
Testosterone (T)	<u>432</u> , 417, 327	0.895
11 β -OH-androsterone (OHAN)	<u>522</u> , 508, 417	0.912
11 β -OH-etiocholanolone (OHET)	<u>522</u> , 508, 417	0.925
Methyltestosterone (MeT, ISTD)	<u>446</u> , 410, 356	1.000

Quantitative ions are underlined.

정확도 및 정밀도 시험. 임의의 한 정상인 남자의 뇨 시료내에 들어 있는 내인성 스테로이드와 그 뇨 시료에 각각의 스테로이드 표준 시료 일정량씩을 가한 후의 총 스테로이드를 정량하여, 그 값들을 비교해 봄으로써 본 분석 방법의 정확도 및 정밀도를 시험하였다. 이때 첨가하는 스테로이드 표준 시료의

양은 정상인 뇨 시료에 존재하는 내인성 스테로이드의 농도를 기준으로 dehydroepiandrosterone, epitestosterone, androstenedione, testosterone은 20, 60, 100 ng/mL 씩을, 11 β -hydroxyandrosterone, 11 β -hydroxyetiocholanolone은 300, 900, 1500 ng/mL 씩을, androsterone, etiocholanolone은 3000, 6000, 10000 ng/

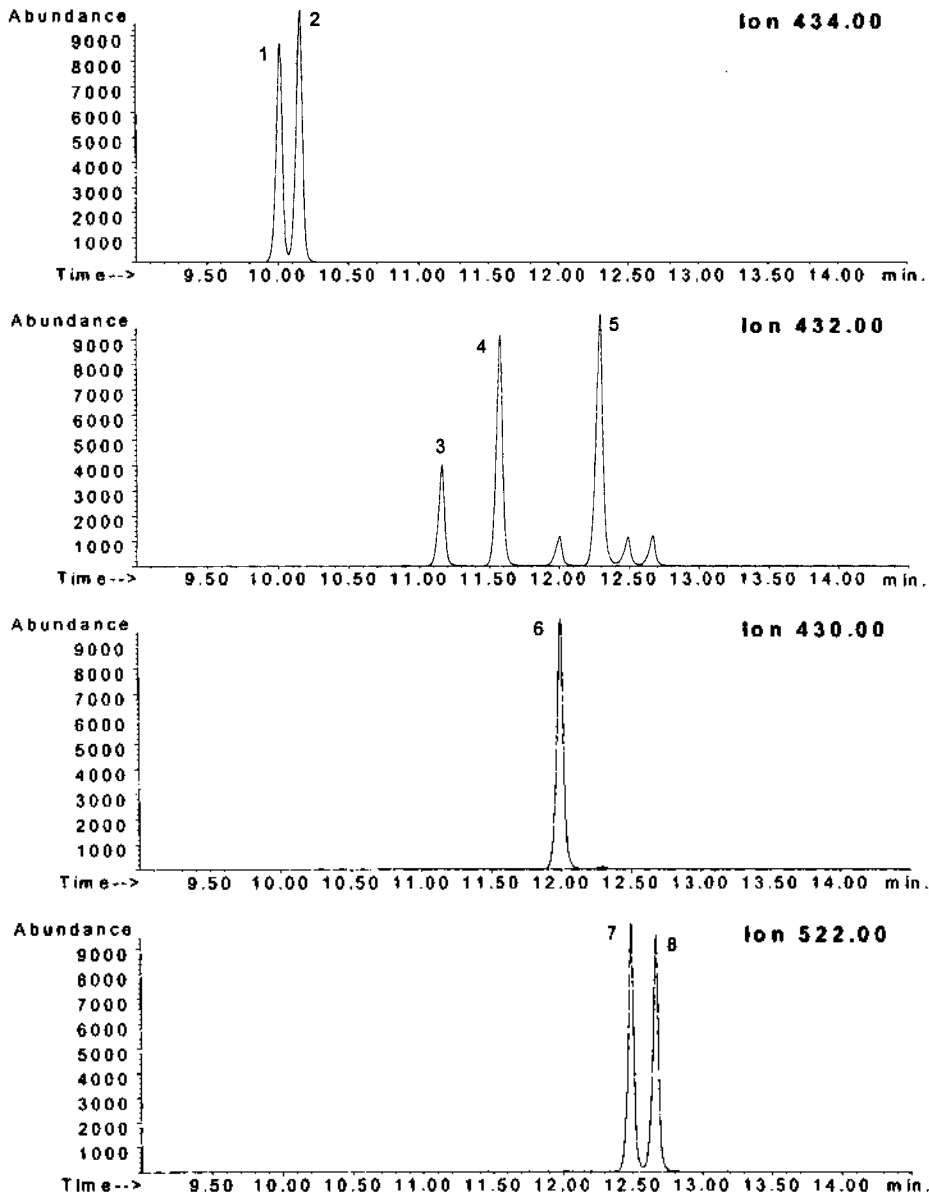


Fig. 1. SIM-Chromatogram of TMS-derivatized eight endogenous steroids. 1) cis-androsterone; 2) etiocholanolone; 3) dehydroepiandrosterone; 4) epitestosterone; 5) testosterone; 6) androstenedione; 7) 11 β -OH-androsterone; 8) 11 β -OH-etiocholanolone.

mL 씩을 첨가하였다. Day-to-day 분석의 경우 하루에 한번씩 3일간 시험하였으며, within-a-day 분석은 하루에 세번 실험하여 그 결과를 비교하였다.

결과 및 고찰

스테로이드 분석 조건의 확립. 스테로이드들은 hydroxyl기와 carbonyl기를 가지고 있으며 이들의 극성으로 인하여 GC에서의 머무름 상태가 불안정하므로 이들을 비극성의 치환체로 유도체화 하여야한다. 스테로이드를 TMS 유도체로 만들기 위해 사용되는 시약에는 MSTFA/TMCS(100:1), MSHFB/TMSIm/TMCS(2:2:1) 및 MSTFA/TMIS(500:1) 등이 있으며, 이들의 반응성은 MSTFA/TMCS 시약의 경우 일반적으로 hydroxyl기에 대해서 반응성이 좋지만 입체적 장애가 있는 경우에는 그러하지 못하고 MSHFB/TMSIm/TMCS 시약은 거의 모든 경우의 hydroxyl기나 일부 enol화가 잘되는 carbonyl기에 대해 반응성이 우수한 반면, MSTFA/TMIS는 모든 hydroxyl기와 carbonyl기에 대해 우수한 반응성을 나타낸다.^{10,11} 이에 본 실험에서는 MSTFA/TMIS를 사용하여 단일생성물을 얻을 수 있는 스테로이드에 대하여 노 시료중에서 nanogram 수준까지 검출하였다.

이들 합성 스테로이드 및 내인성 스테로이드의 분석에는 한번의 시료 처리로 여러개의 스테로이드들을 nanogram 수준까지 동시에 검량할 수 있고, 각 스테로이드의 특성 이온, 분자량 및 상대적 머무름 시간으로 분리하기 때문에 생체 시료내의 간섭 물질들을 효과적으로 배제할 수 있는 GC/MS의 selected ion monitoring(SIM) 방법을 이용하였다. 이 방법을 수행하기 위하여 TMS로 유도체화된 근육 강화제의 대사체 및 내인성 스테로이드의 질량 스펙트럼상에서의 특성 이온과 상대적 머무름 시간을 설정하여 Table 2에 나타내었으며, 8종의 내인성 스테로이드 표준 화합물의 SIM-크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1의 두번째 크로마토그램에서 12.00, 12.50 min. 부근에 검출된 3개의 작은 피크들은 각각 androstenedione(peak no. 6), 11 β -OH-androsterone(peak no. 7) 그리고 11 β -OH-etiocholanolone(peak no. 8)의 또 다른 fragment ion 들이다.

다만 근육 강화제의 경우, 소변 내에서 대사체의 형태로 검출되나 이들 대사체들의 표준화합물은 시판되지 않으므로 정확한 정량값을 보일 수 없다. 따

라서 각 근육 강화제의 주 대사체들이 배설되는 농도의 경향과 내인성 스테로이드들의 농도를 비교할 목적으로 내부 표준 물질로 사용된 methyltestosterone의 peak 크기와 각각의 대사체 peak 크기를 비교하여 정량을 대신하였다.

표준 검정 곡선의 작성. 대상이 되는 내인성 스테로이드의 검정 범위는 정상인의 뇨 시료에서 검출되는 농도에 의해 결정되므로, 정상인들의 뇨 시료를 분석하여 얻어진 농도를 기준으로 검정 농도 범위를 0.05 μ g/mL 에서 15.0 μ g/mL로 정했으며, 검정 곡선을 위한 표준 시료들은 1 ppm~30 ppm의 농도로 만들어 1 μ L씩 주입하여 실험하였다. 이 검정용 표준 혼합물을 본 실험 방법에 따라 추출한 후 MSTFA/TMIS로 유도체화시켜 GC/MS로 분석하여 각각의 검정 곡

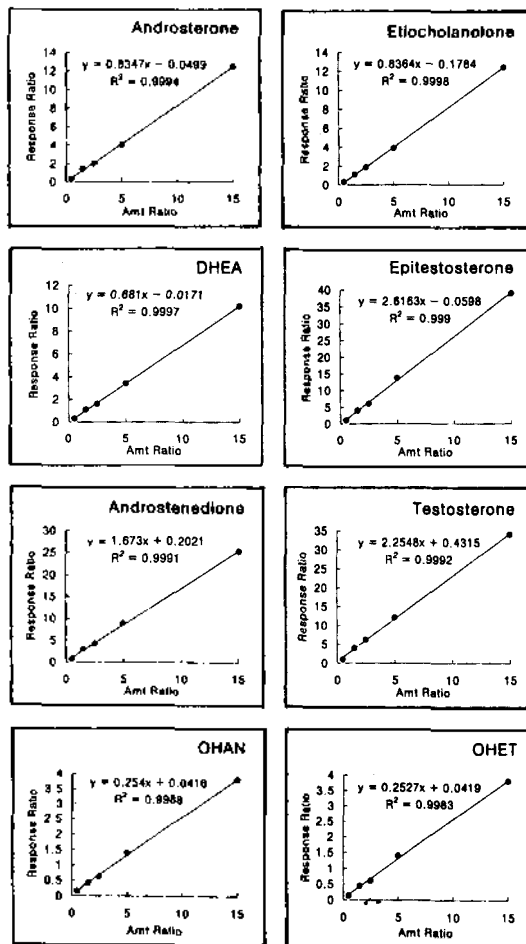


Fig. 2. Calibration curves for measurement of endogenous steroids.

선율 만들었다. 그 결과 모든 표준 점정 곡선은 정량 범위내에서 직선성($R^2 > 0.9738$)을 나타내었다(Fig. 2).

내인성 스테로이드 분석의 정확도, 정밀도 및 회수율. 8종의 내인성 스테로이드에 대하여 본 연구에서 설정한 분석 과정의 회수율을 측정된 결과 72.33%~94.54% 이었으며 이 방법의 정확도와 정밀도는 within-a-day 분석의 경우 RSD 값이 1.43%~10.86% 이었고, day-to-day 분석의 RSD 값은 0.96%~9.98%로 대부분의 내인성 스테로이드에 대하여 10% 이하의 결과를 나타내었다. 본 실험에서 측정된 8종의 내인성 스테로이드에 대한 정확도, 정밀도 및 회수율은 Table 3과 같다.

내인성 스테로이드의 농도 결정 및 체내 농도 변화. 앞에서 설정한 분석 조건으로 정상 성인 남성($n=9$)의 뇨 시료내에 존재하는 스테로이드의 농도를 결정하였으며, 그 결과를 문헌값과 함께 Table 4에 나타내었다. 대상으로한 인종 및 성별 그리고 분석 방법이 다르기 때문에 본 실험에서 결정한 평균값과 문헌값에는 약간의 차이가 있었으나 농도 범위내에는 포함되는 것으로 나타났다. 문헌값과 비교해서 가장 큰 차이를 보인 것은 testosterone과 11β -hydroxy-etiocholanolone으로 그 체내 농도가 한국인의 경우 서양인보다 3.5배 정도 낮은 것으로 나타났다. 또한 내인성 스테로이드 중 가장 많은 양으로 존재하는 것은

Table 3. Precision accuracy and recovery data for measurement of endogenous steroids

Compounds Added Amount (ng/mL)	Recovery (%)	Within-a-day (n=3)		Day-to-day (n=3)	
		Mean \pm SD (ng/mL)	RSD (%)	Mean \pm SD (ng/mL)	RSD (%)
Androsterone	88.73	2411.9 \pm 136	5.71	2318.3 \pm 173	7.52
3000.0		5324.8 \pm 279	5.29	5229.2 \pm 313	6.05
6000.0		8032.6 \pm 623	7.82	8102.4 \pm 583	7.24
10000.0		1251.1 \pm 697	5.63	1232.6 \pm 723	5.94
Etiocholanolone	89.01	2023.0 \pm 143	7.24	2088.3 \pm 199	9.70
3000.0		5087.3 \pm 224	4.47	5011.6 \pm 209	4.22
6000.0		8193.2 \pm 677	8.32	8102.7 \pm 703	8.73
10000.0		1173.2 \pm 701	6.03	1168.3 \pm 742	6.41
Dehydroepiandrosterone	91.88	27.4 \pm 0.8	3.03	24.3 \pm 10.8	7.40
20.00		44.6 \pm 0.8	1.96	42.9 \pm 1.9	4.42
60.00		81.6 \pm 2.7	3.37	83.0 \pm 0.8	0.96
100.00		123.9 \pm 1.6	1.36	126.7 \pm 3.2	2.52
Epitestosterone	87.29	28.6 \pm 1.4	5.06	30.4 \pm 2.5	8.22
20.00		54.4 \pm 4.17	7.67	55.5 \pm 3.9	7.02
60.00		90.6 \pm 5.1	5.70	88.7 \pm 6.8	7.66
100.00		132.1 \pm 14.3	10.86	138.6 \pm 12.8	9.23
Androstenedione	76.01	15.52 \pm 1.0	7.07	15.7 \pm 1.5	9.98
20.00		33.3 \pm 1.7	5.15	32.8 \pm 2.5	7.62
60.00		68.3 \pm 0.9	1.43	66.3 \pm 2.6	3.92
100.00		115.4 \pm 9.3	8.07	127.3 \pm 11.5	9.03
Testosterone	94.54	19.0 \pm 0.7	3.90	18.4 \pm 1.5	8.25
20.00		35.5 \pm 1.0	2.90	35.4 \pm 1.1	3.35
60.00		75.7 \pm 2.7	3.59	74.6 \pm 4.0	5.38
100.00		119.2 \pm 7.0	5.91	120.8 \pm 7.9	6.54
11β -OH-androsterone	88.91	404.1 \pm 13.8	3.49	413.6 \pm 17.3	1.82
300.0		729.3 \pm 30.1	4.19	761.2 \pm 27.9	3.73
900.0		1273.6 \pm 73.3	5.82	1297.6 \pm 81.4	6.32
1500.0		1877.7 \pm 81.3	4.39	1863.9 \pm 72.6	3.97
11β -OH-etiocholanolone	72.33	127.8 \pm 11.6	9.14	120.2 \pm 9.8	8.21
300.0		414.6 \pm 19.2	4.69	428.8 \pm 27.4	6.43
900.0		1002.8 \pm 66.3	6.68	1093.5 \pm 70.0	6.47
1500.0		1633.7 \pm 88.4	5.47	1628.2 \pm 90.3	5.60

Table 4. Concentration of urinary endogenous steroids in normal male subjects (27-48y, n=9)

Compounds	This Study		Reference Values
	Range	Mean	
Androsterone	704-2632	1821	2735 ^a , 1930 ^b , 1330 ^c
Etiocholanolone	413-2092	1249	1990 ^a , 1265 ^c
Dehydroepiandrosterone	10-86	37	86 ^a
Epitestosterone	14-59	31	34 ^a
Androstenedione	1.8-3.5	2.2	-
Testosterone	2.3-60	13	46 ^a
11 β -OH-androsterone	350-3455	1033	1024 ^a , 1240 ^b
11 β -OH-etiocholanolone	11-371	103	387 ^a , 224 ^c

unit: ng/mL a: reference no. 12 b: reference no. 13 c: reference no. 14

androsterone 이었고 androstenedione의 농도가 가장 낮음을 알 수 있었다.

위의 결과를 토대로 근육 강화제 투여에 따른 내인성 스테로이드의 체내 농도 변화를 관찰하였다. 일반적으로 근육 강화제는 지속성이 강한 것으로 알려져 있는데, 가장 늦게까지 검출된 것은 mesterolone으로 복용 후 22시간 까지 검출되었고, 복용 후부터 농도가 가장 높게 나타나는 시간까지의 소변에서는 거의 모든 내인성 스테로이드들의 농도가 현저하게 감소되었다. Bolasterone, clostebol, methyltestosterone, norethandrolone 등의 경우 근육 강화제의 농도가 현저히 증가되기 직전의 시료에서 내인성 스테로이드들의 농도가 최저치를 보였다. 반면 nandrolone은 1.8시간에서 최고치를 나타내는 시간(3.8시간)의 농도와 거의 비슷한 양이 검출되었는데, 이때 내인성 스테로이드들의 농도가 가장 낮았다. 전체적으로 볼 때, 근육 강화제 복용 후 내인성 스테로이드들의 농도는 약 10% 정도로 감소하였고 특히 mesterolone 복용 후 4시간이 경과한 시료에서 etiocholanolone은 1%까지 낮아졌으며, dehydroepiandrosterone와 11 β -hydroxyetiocholanolone의 경우에는 검출 한계 이하의 농도를 보였다. 이렇게 근육 강화제를 복용 한 후 감소하기 시작한 내인성 스테로이드들은 최저치를 나타낸 다음, 급격하게 증가하여 복용 직전의 농도와 유사하거나 그 보다 2-3배 정도 상승된 값을 나타내었다. Nandrolone이 비교적 빠른 시간에 최고치를 나타내는 것을 제외하면 일반적으로 내인성 스테로이드들의 농도는 근육 강화제가 최고 농도를 나타내는 시간 또는 직후의 시간에서 많은 양이

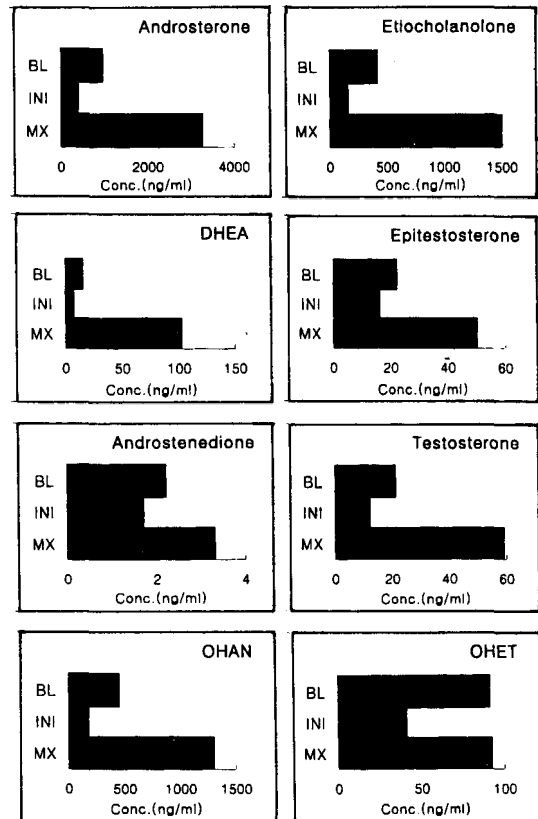


Fig. 3. Excretion rates of endogenous steroids after the administration of anabolic steroids (Bolasterone). BL (Blank Urine); INI (Urine within several) hours after administration; MX (Urine of T_{max}).

검출되었으며, 투여 후 2-3일이 지나면 대체로 정상적인 농도로 되돌아가는 것을 알 수 있었다. 9가지 근육 강화제중 그 농도에 따른 내인성 스테로이드의 변화가 가장 확실하게 나타나는 bolasterone에 대해서 복용 전과 직후, 그리고 최고 농도에 도달했을때의 내인성 스테로이드들의 양적인 변화를 Fig. 3에 나타내었다.

또한 내인성 스테로이드간의 농도 비율에 있어서는 androsterone/etiocholanolone (A/E)가 bolasterone, boldenone 및 norethandrolone의 투여 직후에는 현저하게 감소되었고, clostebol, mesterolone, nandrolone 및 oxymetholone의 경우에는 현저하게 증가되었다 (Fig. 4). 그 밖에도 androsterone/testosterone, androsterone/11 β -hydroxyandrosterone, androsterone/dehydroepiandrosterone, testosterone/epitestosterone(T/E)

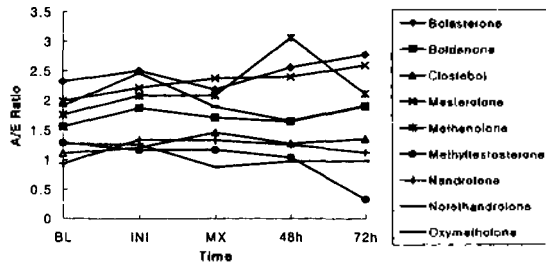


Fig. 4. Changes of A/E value after the administration of anabolic steroids.

및 11 β -hydroxyandrosterone/11 β -hydroxyetiocholanolone 등의 비율도 크게 변화하는 것을 알 수 있었다.

결론

본 연구에서는 현재 시행되고 있는 금지 약물 분석법을 이용하여 뇨 시료내에 존재하는 내인성 스테로이드들을 동시에 정량 분석 하기 위한 조건을 설정하였다. 즉, Serdolit AD-2 수지를 이용한 액체-고체 추출법과 효소 가수분해 그리고 액체-액체 추출법을 거치는 전처리 과정을 진행하였으며, GC/MS를 이용한 분석이므로 MSTFA/TMIS를 사용하여 스테로이드의 극성기를 TMS-enol-ether로 유도체화하였고, 원하지 않는 내인성 화합물을 배제하고 검출 한계를 낮추기 위하여 selected ion monitoring(SIM) 방법으로 정량하였다.

이 방법으로 정상 성인 남자의 뇨 시료내에 존재하는 스테로이드의 농도를 결정하여 그 평균과 농도 범위를 참고 문헌값들과 비교해본 결과 일치성을 나타내어, 이 방법을 토대로 9가지 근육 강화제를 정상인에게 투여한 후, 시간에 따라 소변으로 배설되는 근육 강화제의 농도와 8종의 주요 내인성 스테로이드의 농도를 동시에 정량함으로써 각 근육 강화제의 농도 변화에 따라 내인성 스테로이드의 농도 및 그들간의 농도 비율이 특이한 변화 경향을 보임을 관

찰하였다.

본 연구 결과는 약물 남용 여부를 판단할 수 있는 기초 자료로서 이용될 것이며, 앞으로의 연구에서는 보다 많은 스테로이드의 평균 농도 및 범위를 설정하여 스테로이드 호르몬 대사 질환의 진단 및 치료에도 이용될 수 있으리라 생각한다.

인용문헌

1. Wade, N. *Science* **1972**, *176*, 1399.
2. Shackleton, C. H. L. *J. Chromatogr.* **1986**, *217*, 231.
3. Chrostowski, K.; Daniewski, M.; Partyka, E.; Plewka, I.; Szpindler, W. *13th Cologne Workshop on Dope Analysis*; **1996**, Proceeding 131.
4. Norli, H. R.; Esbensen, K.; Westad, F.; Birkeland, K. I.; Hemmnersbach, P. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **1995**, *54*, 83.
5. Donike, M.; Geyer, H.; Kraft, M.; Rauth, S. *Longterm influence of anabolic steroid misuse on the steroid profile*; International Athletic Foundation, 1990; p 107.
6. Luisi, M.; Franchi, F.; Kicovic, P. M.; Silvestri, D.; Cossu, G. *J. Steroid Biochem.* **1981**, *14*, 1069.
7. Alexander, M. *Clin. Chem.* **1975**, *21*, 803.
8. Shackleton, C. H. L. *J. Chromatogr.* **1986**, *379*, 91.
9. Schänzer, W.; Donike, M. *Anal. Chim. Acta.* **1993**, *275*, 23.
10. Knapp, D. R. *Analytical Derivatization Reaction*; John Wiley & Sons: New York, U. S. A., 1979; p 8.
11. Colvin, E. W. *Silicon Reagents in Organic Synthesis*; Academic Press: London, G. B., 1988; p 91.
12. Geyer, H.; Schänzer, W.; Engelke, U. M.; Donike, M. *13th Cologne Workshop on Dope Analysis*; **1996**, Proceeding 95.
13. Axelson, M.; Sahlbery, B. L.; Sjövall, J. *J. Chromatogr.* **1981**, *224*, 355.
14. Vrbanac, J. J.; Braselton, W. E.; Holland, J. F.; Sweeley, C. C. *J. Chromatogr.* **1982**, *239*, 265.