



Nytt verktyg inom dopningskontrollen

Projektnamn: Studier av ett mikrobiellt in vitro-system för produktion av läkemedelsmetaboliter till dopningskontrollen
Projektledare: Mikael Hedeland, Avdelning för kemi, Statens Veterinärmedicinska Anstalt
År: 2006, 2007
Kontaktperson: Mikael Hedeland, 018-67 42 09, Mikael.Hedeland@sva.se

Syfte med studien

En välfungerande dopningskontroll är en förutsättning för att hästsporten ska kunna vara rättvis och för att djurskyddet ska kunna upprätthållas. Dopningsreglerna är strängare för hästar än för människor, eftersom ett djur inte själva kan bestämma om de ska ta en viss medicin. Detta innebär att inga läkemedel alls får ges till hästen i samband med tävling. De flesta ämnen man äter lämnar kroppen genom att de kissas ut och det är därför vanligast att ett dopningsprov består av just urin. För ett positivt resultat från ett dopningsprov ska hålla som bevis i en rättegång så ställs vissa krav på hur analysen ska ha gått till. Bland annat så måste man jämföra resultatet från det misstänkta provet med det som man får från en renframställd produkt av det ämne man tror hästen har tagit.

Kroppen omvandlar ibland ämnena innan de hamnar i urinen. Detta gör att man vid analys av ett dopningsprov ibland måste söka efter omvandlingsprodukter av otillåtna ämnen istället för efter det ämne som hästen verkligen intog. Ett problem är att renframställda omvandlingsprodukter ofta är svåra att få tag i. Det finns olika tänkbara sätt att tillverka dessa. Man kan låta en kemist göra dem genom så kallad kemisk syntes. Detta sätt är dyrt och tar lång tid. Ett annat sätt är att låta en häst äta det ämne man är intresserad av och att sedan rena fram omvandlingsprodukterna ur urinen. Detta sätt är opraktiskt och det kräver att man utför djurförsök, vilket inte är bra ur ett etiskt perspektiv.

Syftet med denna studie har därför varit att undersöka möjligheten att använda en svamp som heter *Cunninghamella elegans* för att omvandla läkemedel. Fördelarna med denna metod är att den är billig, snabb och att inga djurförsök behöver göras.

Resultatet

Vi har valt ut några läkemedel som är intressanta för dopningskontrollen, för att se hur de omvandlas av svampen. De ämnen som studerats mest ingående var klemastin som ges mot allergier, meloxicam som ges mot smärta och inflammationer, samt bupivakain som är lokalbedövande. Dessa gavs till svampen och efter en tid så gjordes en kemisk analys för att ta reda på om och hur ämnena hade förändrats. Det visade sig att svampen omvandlade dessa läkemedel på liknande sätt som däggdjur gör. Detta resultat är mycket viktigt och visar att denna metod kan användas för att framställa omvandlingsprodukter av otillåtna ämnen som kan användas som jämförelsematerial inom dopningskontrollen.

Metod

Svampen *Cunninghamella elegans* finns att köpa. Den ser ut som en ljus fluffig massa. Den kan leva mycket länge genom att man förvarar den så kallade ursprungskulturen i kylskåp och från den tar en liten portion som får växa till i buljong i ett värmeskåp. När svampen växt till,



så tillsätts det läkemedel man vill studera. Man låter sedan svampen i buljong stå i ett värmeskåp under några dagar.

Efter detta så utförs en kemisk analys av buljongen för att se hur läkemedlet påverkats. Denna analys har skett med en teknik som kallas masspektrometri. Med masspektrometri kan man mäta vad en molekyl väger. Man kan också få fram ett mönster som kan betraktas som ett fingeravtryck för ett visst ämne. Denna teknik används av alla dopningslaboratorier och man anser att detta är den enda metod som kan ge bevis som är tillräckligt bra för att hålla i en rättegång.

Slutsats

Svampen *Cunninghamella elegans* kan tillverka omvandlingsprodukter av läkemedel på liknande sätt som hästar gör. Detta gör att den kommer att bli ett viktigt verktyg inom dopningskontrollen.

Vetenskapliga referenser

Tevell, A., Olsson, C., Bondesson U., Hedeland M. Identification of drug metabolites produced by the fungus *Cunninghamella elegans* using liquid chromatography – tandem mass spectrometry. Proceedings from the 16th, ICRAV, Tokyo, Japan 2006, p. 512-517.

Tevell Åberg, A., Olsson, C., Bondesson, U., Hedeland, M. (2009) A study on meloxicam metabolism in horses and the fungus *Cunninghamella elegans*, and the relevance of this microbial system as a model of drug metabolism in horses. Accepted for publication in Journal of Mass Spectrometry.

Tevell Åberg, A., Löfgren, H., Bondesson, U., Hedeland, M. (2009) Structure elucidation of N-oxidized clemastine metabolites by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and the use of *Cunninghamella elegans* to facilitate drug metabolite identification. Manuscript.

Tevell Åberg, A. (2009) Detection and Structure Elucidation of Drug Metabolites in Biological Samples using High Performance Tandem Mass Spectrometry Techniques, Doctoral Thesis, Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Pharmacy 90.

Det här projektet har fått anslag från Stiftelsen Svensk Hästforskning. Det här är en populärvetenskaplig sammanfattning av den slutrapport som forskarna skrivit efter forskningsprojektets slut. Mer information kan fås direkt från forskarna själva eller från Stiftelsen Svensk Hästforskning, www.hastforskning.se.