

## 7. ZUSAMMENFASSUNG

Die SPME-GC ist als neue und effektive Methode zur Bestimmung von ausgewählten Arzneimitteln im Plasma im Rahmen des Therapeutischen Drug-Monitoring (TDM) prinzipiell geeignet. Das wurde anhand vollständig validierter Methoden zur Bestimmung von verschiedenen Arzneistoffen aus Plasma in dieser Arbeit gezeigt.

Ein wichtiges Kriterium, das Arzneistoffe für eine SPME-Analyse favorisiert, ist ein hoher Retentionsindex, um eine gute Abtrennung von Matrixsignalen zu erhalten. Des Weiteren sollten die Arzneistoffe für eine SPME-Analyse nicht in zu niedrigen Konzentrationen im Serum oder Plasma vorliegen. Anforderungen an das Nachweisvermögen ergeben sich vorrangig aus dem therapeutischen Bereich des Arzneimittels, werden aber auch durch seine chemischen Eigenschaften beeinflusst (z. B. Zahl der Stickstoffatome im Molekül bei NPD). Anforderungen der Selektivität folgen aus dem gaschromatographischen Retentionsindex im Verhältnis zu den unvermeidlichen Interferenzen aus der Extraktion. In Abbildung 61 ist die Einteilung der untersuchten Arzneimittel in einem empirischen Schema entsprechend diesen Anforderungen des Analyten an das Nachweisvermögen und die Selektivität der SPME-GC-Methode grob dargestellt. Wegen der insgesamt relativ vergleichbaren Trenneigenschaften der verwendeten GC-Systeme scheint diese globale Übersicht erlaubt.

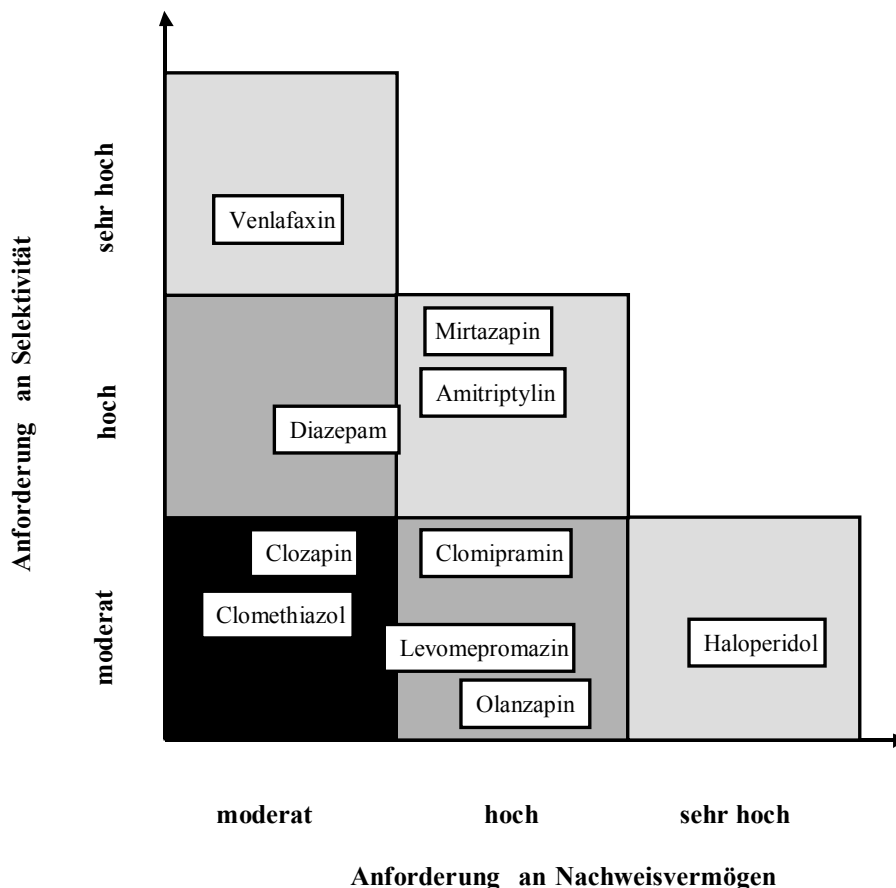


Abb. 61 Empirisches Schema zur Eignung der SPME-GC für die Bestimmung von Arzneimitteln im TDM in Abhängigkeit von den Anforderungen bezüglich Nachweisvermögen und Selektivität der Methode: schwarz: gut bis sehr gut geeignet, dunkelgrau: Übergangsbereich, hellgrau: nicht geeignet.

Clozapin erwies sich als idealer Analyt für die SPME. Da Clomipramin im Vergleich zu anderen TZA einen relativ hohen Retentionsindex hat, konnte eine TDM-Methode entwickelt werden. Die Bestimmung von Clomethiazol mittels Headspace-SPME stellt für die Methodenentwicklung in der SPME-Arzneimittelanalytik eine interessante Variante dar. Aufgrund seiner hohen Flüchtigkeit und relativ hohen Konzentration im Serum konnte gezeigt werden, wie ein Headspace-SPME-Verfahren in Zukunft entwickelt werden könnte. Bei den Analyten Levomepromazin und Olanzapin wurden die Grenzen der Empfindlichkeit der Methode erreicht. Trotzdem konnten jedoch für beide Analyten Methoden entwickelt werden. Bei Olanzapin musste allerdings noch ein Deproteinierungsschritt vor die eigentliche SPME vorgeschaltet werden, was eine

Einschränkung der Vorteile der SPME mit sich bringt. Für Amitriptylin, Mirtazapin, Diazepam, Haloperidol sowie Venlafaxin konnten keine zufriedenstellenden Ergebnisse im Bereich therapeutisch relevanter Konzentrationen erzielt werden. Insgesamt scheint die SPME nur in einem bestimmten Fenster der nachzuweisenden und zu bestimmenden Konzentrationen sowie der chromatographischen Trennung möglich. Für die klinische Toxikologie verschieben sich die Anforderungen bezüglich des Nachweisvermögens zugunsten der SPME. Hier könnte für die SPME ein breites Anwendungsfeld entstehen.

Im Vergleich zu anderen Methoden der Probenaufarbeitung ist die niedrige Wiederfindungsrate der SPME von Arzneimitteln in Plasma kritisch zu sehen. Ursache dafür ist u.a. die Eiweißbindung der Analyten sowie eine erhöhte Viskosität der Matrix. Diese relativ niedrige Wiederfindungsrate führt zu einer Verringerung der Sensitivität und zu Problemen mit der Präzision im Vergleich zu bisherigen Verfahren der Probenaufarbeitung. Die Regressionskoeffizienten von Zehn-Punkt-Kalibrierungen waren im allgemeinen niedriger als bei vergleichbaren LLE- oder SPE-Verfahren. Trotz dieser Einschränkungen konnten geeignete Methoden für die quantitative Analyse von Arzneistoffen entwickelt werden. Die Eignung der Methoden für den Routine-Einsatz wurde geprüft. Sie ist prinzipiell gegeben. Eine Langzeituntersuchung steht bisher noch aus. Eine Ausdehnung der Extraktionszeit auf 60 min oder 90 min verbessert die Empfindlichkeit der Methode entscheidend. Aufgrund der geringen Wiederfindungsrate der SPME von Arzneistoffen in Plasma ist die Methode empfindlich für Einflüsse durch Matrixänderungen. Dieser Einfluss der Matrix wurde bei einer Methodvalidierung im Detail untersucht. Es wurde jedoch für TZA und Neuroleptika gezeigt, dass Änderungen der Salz-, Triglycerid-, und sauren  $\alpha$ -Glykoproteinkonzentrationen die Methode nicht beeinträchtigen [64, 119, 120, 125]. Änderungen des Albumingehaltes wurden für den Fall von z.B. Lebererkrankungen beachtet. Vor allem wurde durch den Einsatz von internen Standards die Variabilität durch Einflüsse der Matrix kompensiert.

Die Aufreinigung der Probe durch SPME ist insgesamt gering im Vergleich zu einer 3-Schritt-LLE. Die schlechte Abtrennung der Analyten von Matrixbestandteilen durch die SPME im Vergleich zur 3-Schritt-LLE oder zur SPE ist kritisch zu sehen. Die SPME kann grob einer 1-Schritt-LLE oder etwa einer Probenaufarbeitung durch HPLC (automatisierte zweidimensionale HPLC mit *online*-Säulenschaltung) gleichgestellt werden. Demnach ist

die SPME eine vergleichsweise „schmutzige“ Probenaufarbeitung. Ein Großteil der gesamten Trennungsaufgabe bleibt also noch der Chromatographie überlassen.

Hinsichtlich der Wirtschaftlichkeit ergeben sich erhebliche Vorteile gegenüber bisheriger Methoden. Die Probenaufarbeitung mittels SPME stellt eine Kosteneinsparung im Vergleich zur 3-Schritt-LLE und SPE dar, da nur eine geringe Geräteausstattung, Glasgeräte, Chemikalien und Arbeitszeit benötigt werden. Die Wirtschaftlichkeit des Verfahrens wird weiter durch das hier verfolgte Prinzip der simultanen SPME mehrerer Proben gesteigert. Insbesondere liegt das Potenzial der SPME aber in der Einfachheit der Automatisierung.

Als allgemeingültiges Ergebnis der Arbeit kann geschlussfolgert werden, dass die SPME keine universelle Methode für das TDM ist. Die beträchtlichen ökonomischen Vorteile der SPME sollten aber für eine Reihe von Arzneimitteln nutzbar sein. Dabei sind insbesondere im Zentralnervensystem (ZNS) wirksame Pharmaka zu nennen, da ihre physikochemischen Eigenschaften (hohe Lipophilie) den Eigenschaften der SPME-Fasern (PDMS besonders geeignet für lipophile Substanzen) entgegenkommen. In nachfolgenden Arbeiten sind daher nun die Möglichkeiten der SPME für das TDM umfangreicher zu explorieren. Dabei sollten weiterhin Psychopharmaka sowie andere ZNS-wirksame Pharmaka im Vordergrund stehen, z.B. Antiepileptika hätten den wichtigen Vorteil einer viel höheren Konzentration in Plasma bei therapeutischer Dosis.