

Nina Sophia Mahlke

Dr. med.

## **Untersuchungen zum Metabolismus von Fentanyl**

Fach/Einrichtung: Rechtsmedizin

Doktormutter: apl. Prof. Dr. rer. nat. G. Skopp

Die Verstoffwechslung von Fentanyl (F) ist bisher nur unzureichend untersucht, obwohl dieser Wirkstoff seit vielen Jahren erfolgreich zur Behandlung starker Schmerzen eingesetzt wird. Ein Grund hierfür sind die sehr geringen Konzentrationen an F und seinen Metaboliten in Blut- und Urinproben, die nur mit aufwändigen massenspektrometrischen Methoden zuverlässig bestimmt werden können. Für einen Einsatz in klinischen Studien und im forensisch-toxikologischen Labor wurde eine Methode mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie/Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS) und interner Standardisierung entwickelt, mit der die simultane Bestimmung von F, Norfentanyl (NF), Despropionylfentanyl (DPF) und Hydroxynorfentanyl (OHNF) in Plasma- und Urinproben möglich ist.

Die Methode beinhaltet die kostengünstige und rasche Extraktion aller Analyte mit einem gängigen Lösemittel aus alkalischem pH-Bereich, die chromatographische Trennung an Säulen, die in der Analytik weit verbreitet sind und sich im Routinelabor bewährt haben sowie die Analyse und Detektion mittels Tandemmassenspektrometrie, welche mittlerweile auch breiter in den Lebenswissenschaften eingesetzt wird. Mit einer Probenvorbereitungszeit von ungefähr 40 min, in der man mehrere Proben gleichzeitig aufarbeiten kann und einer Analysenzeit mit LC-MS/MS von 5 min pro Probe ist ein hoher Probendurchsatz effizient möglich. Vorteilhaft ist auch der Einsatz der geringen Probenmenge im Hinblick auf klinische Studien und den erforderlichen ökonomischen Einsatz der häufig limitierten Menge forensischer Proben.

Die unter forensisch-toxikologischen Vorgaben durchgeführte Methodvalidierung ergab für alle Parameter mit Ausnahme einer Stabilitätsprüfung exzellente Ergebnisse, insbesondere im Hinblick auf den Matrixeffekt, der „Achillesferse“ der LC-MS/MS Analytik. Die

Untersuchungen zur Stabilität legen nahe, die Proben nicht zu häufigen Einfrier-/Auftau-Zyklen auszusetzen. Die analytischen Grenzen liegen, mit Ausnahme von OHNF, deutlich unter 0,1 ng/mL.

Die Analysenmethode konnte erfolgreich auf Proben einer klinischen Studie, auf einen forensischen Fall sowie auf erste in vitro Untersuchungen zur Verstoffwechslung von F anhand rekombinanter Cytochrom P450-Enzyme angewandt werden. Die Anwendung neuer Analysenmethoden auf Realproben stellt auch nach Abschluss einer erfolgreichen Validierung einen sog. „acid test“ dar.

F und NF sind, aufgrund ihrer relativ höheren Konzentrationen, konstanter in menschlichem Untersuchungsmaterial nachzuweisen als die weiteren Metabolite. NF ist in Urinproben stets in höheren Konzentrationen als F fassbar, so auch bei einer nur wenige Stunden überlebten Intoxikation. Für Routineuntersuchungen zur Frage einer Überdosierung eignen sich F und NF auch weiterhin besser als DPF und OHNF. Als sehr nützlich erweist sich die Bestimmung der Metabolite bei der Untersuchung pharmakologischer Fragestellungen. Hier eröffnet sich erstmals die Möglichkeit, den Metabolismus von F grundlegend mit einer validen Methode zu erforschen.

Die Ergebnisse der authentischen Proben der klinischen Studie sind mit den Literaturangaben, soweit verfügbar, vereinbar, so auch der forensische Fall. In den Plasmaproben konnten F, NF und DPF detektiert werden, in den Urinproben alle durch die Methode erfassbaren Analyte. Hierbei konnten sowohl der hohe Probendurchsatz als auch die Geeignetheit der Methode für forensisches Untersuchungsmaterial, das aufgrund postmortaler Veränderungen schwierig aufzuarbeiten ist, erfolgreich getestet werden.

Die Untersuchungen zu den CYP-Enzymen bestätigen den Umsatz von F zu NF und DPF durch CYP 3A4, zusätzlich konnten noch weitere CYP-Enzyme identifiziert werden, die in geringerem Maß am Abbau von F beteiligt sein können. Für CYP2C9 und CYP2D6 ergaben sich Hinweise auf eine Substrathemmung. Die Frage möglicher Arzneimittelinteraktionen und ihres Ausmaßes hinsichtlich einer Verstärkung oder Abschwächung der Wirkung von F sowie ein Einfluss der Metabolite sollte in weiteren Untersuchungen geprüft werden.

Die vorliegend entwickelte Methode erwies sich als zweckmäßig und effizient für die

Bestimmung von F und seinen Metaboliten in biologischem Untersuchungsmaterial. Der bereits erfolgte Einsatz der Analysenmethode in der Praxis lässt darauf schließen, dass diese Methode auch für zukünftige Fragestellungen grundlegender und angewandter Forschung erfolgreich angewandt werden kann.