

## Inhalt

<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1 Die Cytochrom P 450 Enzyme .....</b>	<b>13</b>
1.1.1 Physiologische Bedeutung des humanen Cytochrom P 450 Systems .....	13
1.1.2 Polymorphismen von Cytochrom P 450 Enzymen .....	14
<b>1.2 Cytochrom P 450 1A2 .....</b>	<b>15</b>
<b>1.3 Ausgewählte Polymorphismen von Cytochrom P450 1A2 .....</b>	<b>19</b>
1.3.1 Cytochrom P450 1A2*1C .....	20
1.3.2 Cytochrom P450 1A2*1K .....	21
1.3.3 Cytochrom P450 1A2*3 .....	23
1.3.4 Cytochrom P450 1A2*4 .....	24
1.3.5 Cytochrom P450 1A2*6 .....	25
<b>1.4 Arzneistoffe als Substrate von Cytochrom P 450 1A2 .....</b>	<b>26</b>
1.4.1 Amitriptylin .....	28
1.4.2 Clozapin .....	29
1.4.3 Duloxetin .....	30
1.4.4 Haloperidol .....	32
1.4.5 Imipramin .....	33
1.4.6 Mirtazapin .....	35
1.4.7 Olanzapin .....	36
1.4.8 Ziprasidon .....	37
<b>1.5 Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) als Mittel zur Phänotypisierung .....</b>	<b>39</b>
1.5.1 TDM in der Pharmakotherapie von psychiatrischen Erkrankungen .....	39
1.5.2 Die klinisch-pharmakologische Befundung .....	40
<b>1.6 Entwicklung von Mehrfachkonzentrationsbestimmungen mittels HPLC/UHPLC .....</b>	<b>47</b>
1.6.1 Analytische Methoden zur Mehrfachkonzentrationsbestimmung mittels HPLC .....	48
1.6.2 Entwicklung von Mehrfachkonzentrationsbestimmungen mittels UHPLC .....	50
<b>2 FRAGESTELLUNG DER ARBEIT .....</b>	<b>51</b>

<b>3 MATERIALIEN UND METHODEN .....</b>	53
<b>3.1 Laborgeräte und Materialien .....</b>	53
<b>3.2 Reagenzien und Chemikalien .....</b>	54
<b>3.3 Pharmaka .....</b>	55
<b>3.4 Stammlösungen und Verdünnungen .....</b>	56
3.4.1 Stammlösungen .....	56
3.4.2 Verwendung von humanem Serum zur Methodenentwicklung .....	57
3.4.3 Vorbereitung von Patientenproben .....	57
3.4.4 Standards und Kontrollen .....	57
<b>3.5 Chromatographisches Trennsystem.....</b>	60
3.5.1 Chromatographiesäulen für das U-/HPLC-System.....	60
3.5.2 Off-line Extraktionskartuschen für die UHPLC-Konzentrationsbestimmung .....	61
3.5.3 U-/HPLC-Anlagen .....	61
3.5.4 Mobile Phase .....	62
3.5.5 Probenvorbereitung für UHPLC-Messungen .....	62
3.5.6 Chromatographische Bedingungen .....	64
3.5.7 Auswertung von Chromatogrammen .....	66
<b>3.6 Validierung einer Mehrfachanalyse mit HPLC-System.....</b>	67
3.6.1 Linearität.....	67
3.6.2 Richtigkeit.....	68
3.6.3 Präzision .....	68
3.6.4 Stabilität .....	69
3.6.5 Nachweisgrenze .....	69
3.6.6 Bestimmungsgrenze .....	70
3.6.7 Wiederfindungsrate .....	70
3.6.8 Robustheit .....	70
3.6.9 Selektivität .....	71
<b>3.7 Methoden für Genotypisierung .....</b>	72
3.7.1 DNA-Isolierung .....	72
3.7.2 Polymerase-Kettenreaktion .....	72
3.7.3 Verdau der PCR-Fragmente .....	74
3.7.4 Gelelektrophorese .....	75

3.7.5 Gelextraktion .....	75
3.7.6 Validierung einer Polymerase-Kettenreaktionsmethodik .....	76
3.7.7 Beurteilung der Genotypisierungsergebnisse .....	77
<b>4 ERGEBNISSE.....</b>	<b>81</b>
<b>4.1 Entwicklung einer HPLC/UHPLC-Mehrfachanalyse und Integration in die Routineanalytik eines TDM-Labors .....</b>	<b>81</b>
4.1.1 Methodenentwicklung mit HPLC/UV zur Bestimmung von Wirkstoffgemischen.....	81
4.1.2 Methodenentwicklung mit UHPLC/UV zur Bestimmung von Wirkstoffgemischen.....	88
4.1.3 Validierung einer chromatographischen HPLC-Mehrfachanalyse mit Serum .....	108
<b>4.2 TDM mit klinisch-pharmakologischer Befundung mithilfe des dosisbezogenen Referenzbereiches.....</b>	<b>120</b>
4.2.1 Erweiterung des Therapeutischen Drug Monitorings .....	120
4.2.2 Quantitative Wirkstoffkonzentrationsbestimmung von neu integrierten Arzneistoffen .....	121
4.2.3 Alternative Konzentrationsbestimmung durch die neu entwickelte HPLC-Methode.....	123
<b>4.3 Entwicklung einer PCR-Mehrfachdetektion .....</b>	<b>125</b>
4.3.1 Validierung einer PCR-Methodik für unterschiedliche Polymorphismen.....	125
4.3.2 Genotypisierung der Proben.....	127
4.3.3 DNA-Sequenzierung.....	128
4.3.4 TDM zur Detektion des Phänotyps .....	129
<b>4.4 Bedeutung der Polymorphismen für die Wirkstoffkonzentration im Blut .....</b>	<b>130</b>
4.4.1 Prävalenz der einzelnen CYP 1A2 Isoformen.....	131
4.4.2 Auswertung der einzelnen Isoformen und Wirkstoffe in Bezug auf Phäno- und Genotyp .....	131
4.4.3 Integration der Genotypisierung als CYP 1A2-Polymorphismen Detektionskit in die Routineanalytik.....	156

<b>5 DISKUSSION .....</b>	<b>159</b>
<b>5.1 Entwicklung einer neuen HPLC/UV Methode zur quantitativen Bestimmung von Psychopharmaka in Serum für die Routineanalytik des TDM .....</b>	<b>159</b>
<b>5.1.1 Analytenauswahl .....</b>	<b>159</b>
<b>5.1.2 Fließmittel .....</b>	<b>160</b>
<b>5.1.3 UV-bzw. Diodenarraydetektion .....</b>	<b>163</b>
<b>5.1.4 In-line Extraktion von Serumproben .....</b>	<b>164</b>
<b>5.1.5 Validierung .....</b>	<b>164</b>
<b>5.2 Methodenentwicklung für UHPLC .....</b>	<b>166</b>
<b>5.2.1 Nucleoshell .....</b>	<b>166</b>
<b>5.2.2 Vorextraktion von Serumproben .....</b>	<b>167</b>
<b>5.2.3 Fazit der Methodenentwicklung für UHPLC .....</b>	<b>170</b>
<b>5.3 Entwicklung einer neuen Polymerasenkettenreaktionsmethode zur qualitativen Bestimmung von humanen CYP 1A2 – Polymorphismen für die medizinische Routineanalytik .....</b>	<b>171</b>
<b>5.3.1 Validierung der PCR-Methode .....</b>	<b>171</b>
<b>5.3.2 Gensequenzierung .....</b>	<b>173</b>
<b>5.3.3 TDM als Detektion des Phänotyps .....</b>	<b>176</b>
<b>5.4 Beurteilung der Genotypisierungsergebnisse mit dem dosisbezogenen Referenzbereich .....</b>	<b>177</b>
<b>5.4.1 Probenauswahl für die Genotypisierung .....</b>	<b>177</b>
<b>5.4.2 Prävalenz der einzelnen Isoformen .....</b>	<b>179</b>
<b>5.4.3 Darstellung des Genotyps in Korrelation zum Phänotyp .....</b>	<b>180</b>
<b>5.5 Integration der Genotypisierung in das TDM-Labor .....</b>	<b>186</b>
<b>5.6 Beurteilung der Pharmakovigilanz durch Genotypisierung und TDM .....</b>	<b>187</b>
<b>5.7 Ausblick .....</b>	<b>189</b>
<b>6 PHARMAKOLOGISCHE BETREUUNG IM KLINIKALLTAG DURCH APOTHEKER ....</b>	<b>191</b>
<b>7 ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>193</b>

<b>8 ANHANG .....</b>	<b>197</b>
<b>8.1 Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>197</b>
<b>8.2 Konbest-Anforderungsbogen .....</b>	<b>198</b>
<b>8.3 Tabellen .....</b>	<b>199</b>
<b>8.4 Publikationen.....</b>	<b>218</b>
<b>8.5 Danksagung .....</b>	<b>219</b>
<b>8.6 Lebenslauf.....</b>	<b>220</b>
<b>8.7 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>221</b>