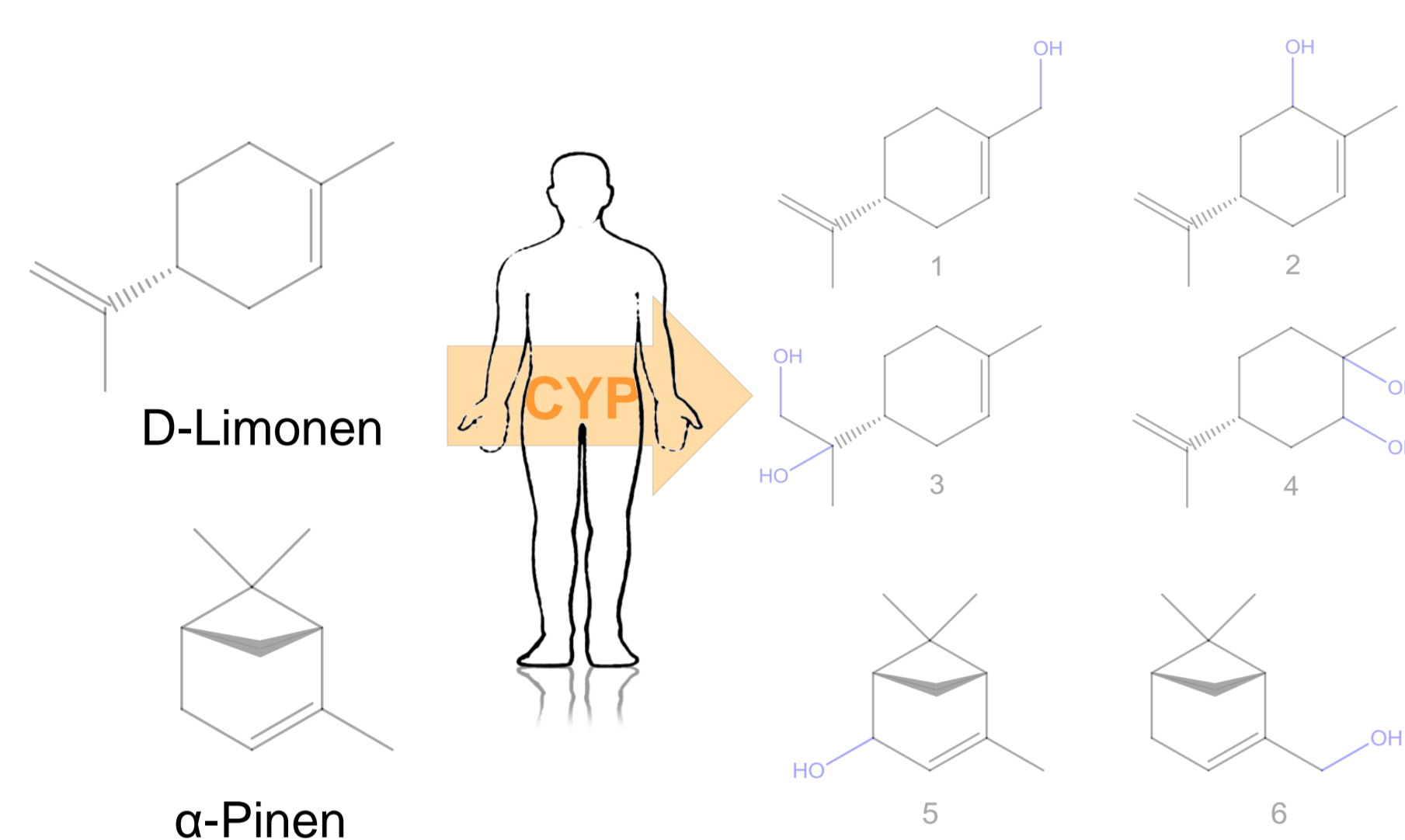


## Einführung

Monoterpene sind Naturstoffe, die aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaften und ihrer relativ hohen Flüchtigkeit als alternative Lösemittel vielfältig eingesetzt werden. Neben der vielbeschriebenen Exposition von Beschäftigten der Holzbranche gegenüber Monoterpenen ist deshalb auch an zahlreichen weiteren Arbeitsplätzen mit einer hohen Monoterpen-Belastung zu rechnen.



**Abb. 1:** Monoterpene D-Limonen und  $\alpha$ -Pinen und mögliche oxidative Metabolite; CYP=Cytochrom P<sub>450</sub>, 1=Perillaalkohol, 2=Carveol, 3=Limonen-8,9-diol, 4=Limonen-1,2-diol, 5=Verbenol, 6=Myrtenol.

## Ziel

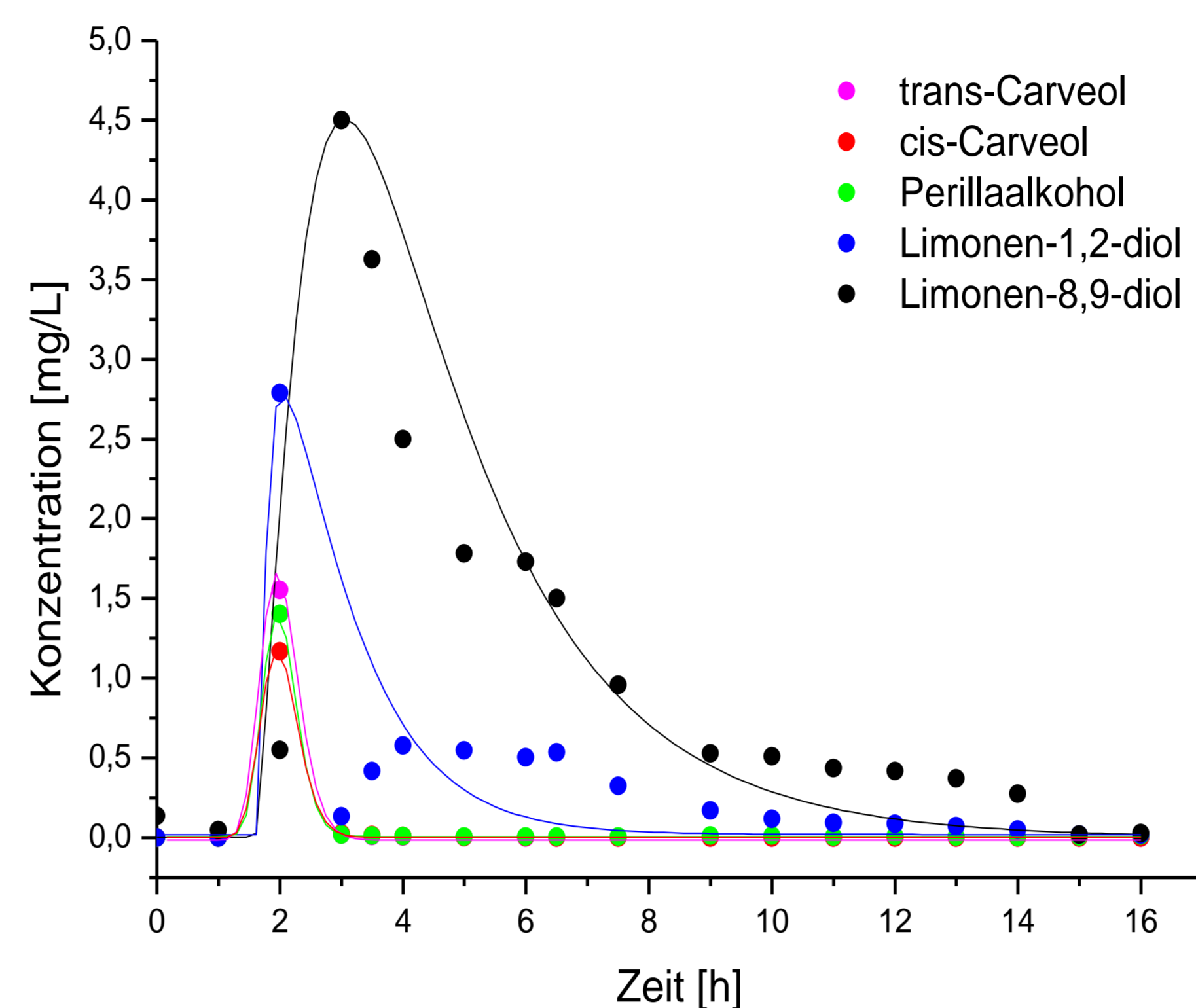
Als Grundlage für die Etablierung eines Verfahrens zum biologischen Belastungsmonitoring von Monoterpenen wurden Untersuchungen zum humanen Metabolismus und der renalen Eliminationskinetik der Metabolite für die beiden bedeutendsten Monoterpene Limonen und  $\alpha$ -Pinen durchgeführt (Abb. 1). Für die Untersuchungen liegt ein positives Votum der Ethik-Kommission der Universität Erlangen-Nürnberg vor.

## Methode

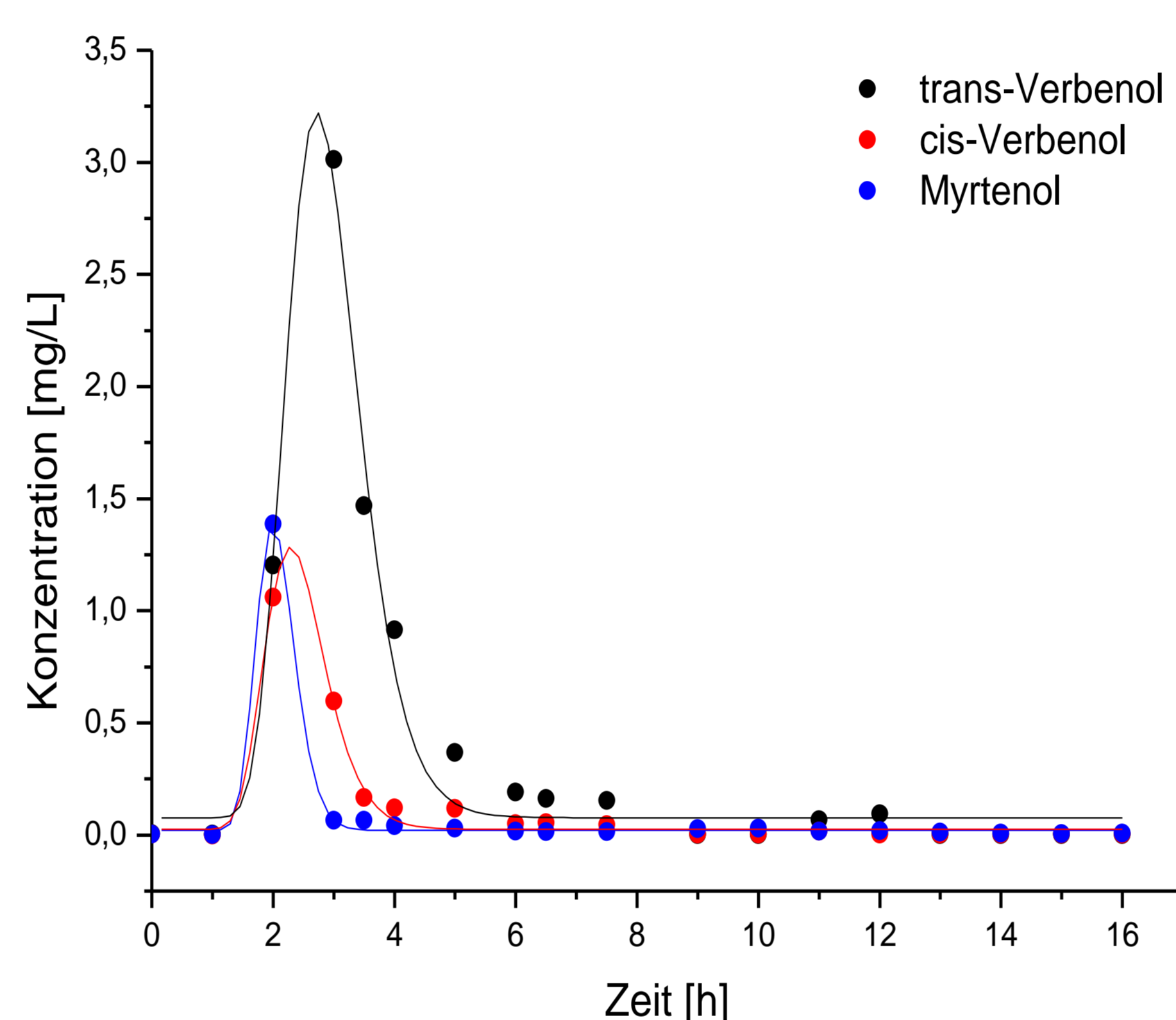
Nach oraler Applikation von 75mg Limonen und 20mg  $\alpha$ -Pinen über eine magensaftresistente Kapsel wurde der Urin zweier Probanden bis 16 h nach Applikation sukzessiv gesammelt und die Parameter der Probennahme dokumentiert. In den Urinproben wurden die Konzentrationen an den in Abb. 1 gezeigten Monoterpen-metaboliten bestimmt. Die Analyse erfolgte nach enzymatischer Hydrolyse, Extraktion und Derivatisierung per Gaschromatographie gekoppelt mit der Tandem-Massenspektrometrie und chemischer Ionisierung (GC-CI-MS/MS). Mit den ermittelten Daten wurden pharmakokinetische Kennzahlen zur Ausscheidungskinetik berechnet und verglichen.

**Tab. 1:** Charakterisierung der Eliminationskinetik von Limonen- und  $\alpha$ -Pinen-Metaboliten zweier Probanden; T<sub>max</sub> = Ausscheidungsmaximum, T<sub>1/2</sub> = Halbwertszeit.

Proband	T <sub>max</sub> [h]	T <sub>1/2</sub> (Min/Max) [h]	T <sub>1/2</sub> (Gesamt) [h]
1	5	4-7	7 (vgl. Abb. 5b)
2	2	1-4	4



**Abb. 2:** renale Ausscheidungskinetik der Metabolite von Limonen bei Proband 2; Fit: Normal-Log.

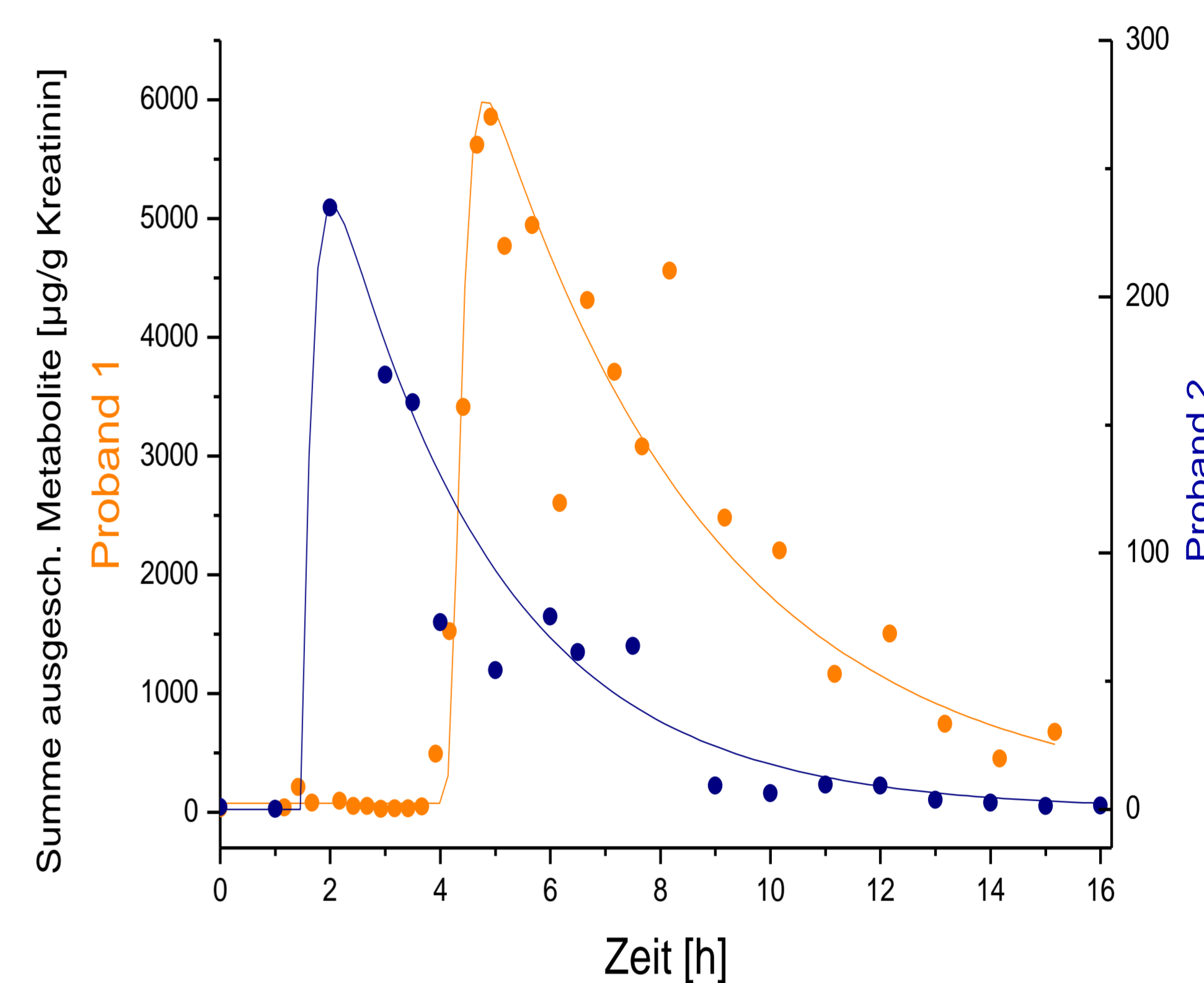


**Abb. 3:** renale Ausscheidungskinetik der Metabolite von  $\alpha$ -Pinen bei Proband 2; Fit: Normal-Log.

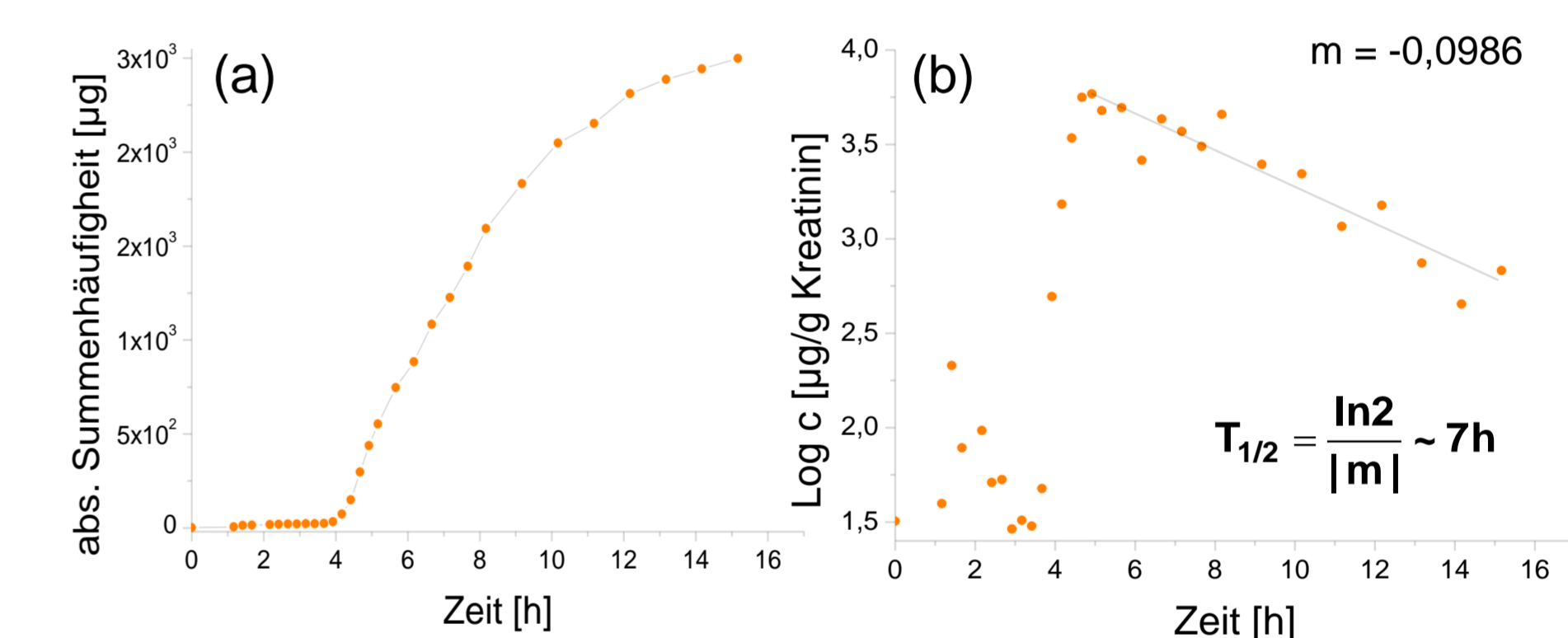
## Ergebnisse

In den Urinproben wurden innerhalb des untersuchten Analysenspektrums neben weiteren minderen Metaboliten Limonen-1,2-diol und Limonen-8,9-diol als Hauptmetabolite des Limonens identifiziert (Abb. 2). Für das  $\alpha$ -Pinen stellen trans- und cis-Verbenol die Hauptmetabolite dar (Abb. 3). Diese Befunde decken sich mit bereits veröffentlichten Daten [1,2]. Die Ausscheidung der Metabolite erfolgte mit einem Konjugatanteil von 90-100%. Für die beiden Probanden wurden allerdings Unterschiede für den Zeitpunkt des Ausscheidungsmaximums sowie für die Halbwertszeiten der Ausscheidung beobachtet (Tab. 1; Abb. 4). Aus der Darstellung der absoluten Summenhäufigkeiten aller ausgeschiedenen Metabolite (Abb. 5a) ist zudem zu entnehmen, dass bei Proband 1 die Metabolitenausscheidung nach 16h noch nicht vollständig beendet war. Die relative Gesamtausscheidung aller untersuchten Metabolite in Bezug auf die oral aufgenommene Menge an Monoterpenen liegt bei rund 3-5%. Dies lässt sich entweder damit begründen, dass nicht alle über den Urin ausgeschiedenen Metabolite mit der Analysemethode erfasst werden, oder, dass bei hohen oral aufgenommenen Monoterpendosen (95mg) ein Großteil der aufgenommenen Menge direkt über die Lunge abgeatmet wird.

Hierfür sprechen auch subjektiv geschilderte Erfahrungen der Probanden, die während der Versuche kurz vor Auftreten des analytisch erfassten Ausscheidungsmaximums einen deutlichen Terpengeruch im eigenen Atem angaben. Die bisher gefundenen Ergebnisse müssen durch weitere Untersuchungen vor allem unter Berücksichtigung geringerer Expositionsmengen und der arbeitsmedizinisch relevanteren inhalativen Expositionsrouten weiter untermauert werden.



**Abb. 4:** zeitlicher Verlauf der Summe der Limonen- und  $\alpha$ -Pinen-Metabolite im Urin zweier Probanden nach oraler Aufnahme von Limonen und  $\alpha$ -Pinen.



**Abb. 5:** (a) absolute Summenhäufigkeit der gesamten renalen Ausscheidung an Monoterpen-Metaboliten von Proband 1 über die Zeit (Summe aller Limonen und  $\alpha$ -Pinen Metabolite); (b) Bestimmung der Halbwertszeit der Ausscheidung aus der Steigung m von Log c.

## Schlussfolgerung

Die Bestimmung der Limonendiole und der Verbenole im Urin bieten sich als Parameter eines biologischen Monitorings von Limonen- und  $\alpha$ -Pinen-Belastungen an.

Aufgrund der schnellen Ausscheidungskinetik werden dabei ausschließlich aktuelle Monoterpen-Belastungen erfasst.

Das Ausmaß und die Einflussfaktoren der interindividuellen Variabilität beim Metabolismus von Monoterpenen sind in weiteren Untersuchungen zu klären.

## Literatur

- [1] Sagunski, H., Heinzow, B. (2003); Richtwerte für die Innenraumluft: Bicyclische Terpene (Leitsubstanz  $\alpha$ -Pinen); Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 46 (4), 346-352.
- [2] UBA (2010); Richtwerte für monocyclische Monoterpene (Leitsubstanz d-Limonen) in der Innenraumluft. Mitteilung der Ad-hoc-Arbeitsgruppe Innenraumrichtwerte der Innenraumluftthygiene-Kommission des Umweltbundesamtes und der Obersten Landesgesundheitsbehörden; Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 53 (11), 1206-1215.