

Verbesserung der Arzneimitteltherapiesicherheit
von Antipsychotika und Beta-Adrenozeptor-Antagonisten
durch Therapeutisches Drug Monitoring
und Untersuchungen zu pharmakokinetischen Interaktionen



Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)
der Fakultät Chemie und Pharmazie
der Universität Regensburg

vorgelegt von

Margarete Silva Gracia
(geb. Wolf)

aus Regensburg

im Jahr 2019

Promotionsgesuch eingereicht: April 2019

Die Arbeit wurde angeleitet von: Prof. Dr. Dr. Ekkehard Haen

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Antipsychotika	3
1.1.1 Anwendungsgebiete	3
1.1.2 Pharmakodynamische Eigenschaften	4
1.1.3 Unerwünschte Arzneimittelwirkungen	5
1.1.4 Pharmakokinetische Eigenschaften	6
1.1.4.1 Resorption, Verteilung und Elimination	6
1.1.4.2 Biotransformation	6
A Clozapin	7
B Olanzapin	9
C Quetiapin	10
1.2 Beta-Adrenozeptor-Antagonisten	11
1.2.1 Anwendungsgebiete	11
1.2.2 Pharmakodynamische Eigenschaften	12
1.2.3 Unerwünschte Arzneimittelwirkungen	13
1.2.4 Pharmakokinetische Eigenschaften	14
1.2.4.1 Resorption, Verteilung und Elimination	14
1.2.4.2 Biotransformation	14
A Metoprolol	15
B Bisoprolol	16
C Propranolol	18
D Carvedilol	19
E Nebivolol	21
F Timolol	22
1.3 Die Cytochrom-P450-Enzymfamilie	24
1.3.1 Bedeutung der Cytochrom-P450-Enzyme an der Metabolisierung von Xenobiotika	24
1.3.2 Struktur und Wirkweise	25
1.3.3 Vorkommen, Einteilung und Verteilung	26
1.3.4 Beeinflussung der CYP-Aktivität	28
1.4 Therapeutisches Drug Monitoring	30
1.4.1 Therapeutischer Referenzbereich	31
1.4.2 Dosisbezogener Referenzbereich	32

1.4.3	Der klinisch-pharmakologische Befund.....	34
2.	Fragestellung der Arbeit.....	36
3.	Material und Methoden.....	38
3.1	Material.....	38
3.1.1	Geräte.....	38
3.1.2	Säulenauswahl.....	39
3.1.3	Chemikalien und Reinsubstanzen.....	40
3.1.4	Verwendung von humanem Serum.....	44
3.1.5	Verwendete Software.....	44
3.2	Methoden.....	44
3.2.1	HPLC-Methode.....	44
3.2.1.1	Herstellung der Stammlösungen, Kontrollen und Standards.....	44
3.2.1.2	Validierung.....	47
A	Analytische Grenzen.....	48
A1.	Nachweisgrenze (Limit of Detection, LOD).....	48
A2.	Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification, LOQ).....	48
B	Linearität.....	48
C	Richtigkeit.....	48
D	Präzision.....	49
E	Stabilität.....	50
F	Wiederfindungsrate.....	50
G	Extraktionsausbeute.....	50
H	Robustheit.....	51
I	Selektivität.....	51
3.2.2	Enzymkinetische Versuche.....	52
3.2.2.1	Herstellung der Stammlösungen und Standards.....	52
3.2.2.2	Versuchsdurchführung.....	53
3.2.3	KONBEST®-Auswertung.....	60
3.2.4	Therapeutisches Drug Monitoring der β -Adrenozeptor-Antagonisten.....	60
3.2.4.1	Patientenproben.....	60
3.2.4.2	Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs.....	60
3.2.4.3	Ermittlung des Zeitintervalls bei vergleichbaren DRB_{av} und DRB_{min}	64

4.	Ergebnisse	66
4.1	Entwicklung einer HPLC/UV- Messmethode zur Bestimmung von Antipsychotika und β -Adrenozeptor-Antagonisten	66
4.1.1	Vorversuche	66
4.1.1.1	Säulenauswahl	66
4.1.1.2	Fließmittelzusammensetzung	67
4.1.2	Chromatographische Bedingungen der entwickelten Methode	68
4.1.3	Validierung	70
A	Analytische Grenzen	70
B	Linearität	71
C	Richtigkeit	74
D	Präzision	74
E	Stabilität	76
F	Wiederfindungsrate und Extraktionsausbeute	78
G	Robustheit	79
H	Selektivität	85
4.1.4	Alternative Methoden	89
4.1.4.1	Ersatzmethode bei Überlagerungen	89
4.1.4.2	Bestimmung von Atenolol	93
4.1.4.3	Abwandlungen der entwickelten Methode	94
4.2	Enzymkinetische Versuche	95
4.2.1	Vergleich des Abbaus über die verschiedenen Isoenzyme	95
4.2.1.1	Metabolisierung der Antipsychotika CLO und QUE über die verschiedenen Isoenzyme	95
4.2.1.2	Metabolisierung der β -AR-Antagonisten MET, PRO, CAR und NEB über die verschiedenen Isoenzyme	96
4.2.2	Einfluss der β -Adrenozeptor-Antagonisten auf den Metabolismus der Antipsychotika	98
4.2.2.1	Bestimmung der pharmakokinetischen Interaktion mithilfe von HLM	98
4.2.2.2	Einfluss der β -Adrenozeptor-Antagonisten auf den Metabolismus von CLO und QUE über rekombinantes CYP2D6	100
4.2.2.3	Ermittlung der CYP-Isoformen, die durch CAR gehemmt werden	102
4.2.2.4	Versuchsbedingungen unter therapeutischen Wirkstoff-konzentrationen	105
4.2.3	Einfluss der Antipsychotika auf den Stoffwechsel der β -Adrenozeptor-Antagonisten	108
4.2.3.1	Bestimmung der pharmakokinetischen Interaktion mithilfe von HLM	108

4.2.3.2	Bestimmung der pharmakokinetischen Interaktion mithilfe von rekombinanten CYP-Isoenzymen.....	110
4.3	KONBEST®-Auswertung	113
4.4	Therapeutisches Drug Monitoring mithilfe der entwickelten HPLC-Methode.....	115
4.4.1	Faktoren zur Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs über C_{av} ..	115
	*Werte sind gerundet.....	115
4.4.2	Faktoren zur Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs über C_{min} ..	116
4.4.3	Ermittlung des Zeitintervalls bei welchem eine Vergleichbarkeit der über beide Berechnungsarten ermittelten dosisbezogenen Referenzbereiche besteht	118
4.4.4	Konzentrationsbestimmungen von β -Adrenozeptor-Antagonisten aus Patientenproben.....	119
A	Konzentrationsbestimmung von Bisoprolol.....	120
B	Konzentrationsbestimmung von Metoprolol.....	122
B1.	Metoprololtartrat	122
B2.	Metoprololsuccinat	124
C	Konzentrationsbestimmung von Propranolol	126
D	Konzentrationsbestimmung von Carvedilol.....	128
E	Konzentrationsbestimmung von Atenolol.....	130
F	Konzentrationsbestimmung von Nebivolol und Timolol.....	132
4.4.4.2	Häufigkeit der Tabletteneinnahme und verwendeter Dosis	132
5.	Diskussion.....	134
5.1	Entwicklung einer HPLC-Methode zur Bestimmung von Antipsychotika und β -Adrenozeptor-Antagonisten	134
5.1.1	Extraktionsmethoden.....	134
5.1.2	Säulenwahl	135
5.1.3	Fließmittelzusammensetzung.....	136
5.1.4	Validierung	137
5.1.4.1	Stabilität.....	137
5.1.4.2	Robustheit	137
5.1.4.3	Selektivität	138
5.2	Enzymkinetische Experimente	139
5.2.1	Vergleich des Abbaus über die verschiedenen CYP-Isoformen.....	139
5.2.2	Einfluss der β -Adrenozeptor-Antagonisten auf den Metabolismus der Antipsychotika	141
5.2.2.1	Metabolisierung über humane Leberzellmikrosomen	141

5.2.2.2	Metabolisierung über rekombinante CYP2D6-Isoenzyme	142
5.2.2.3	Ermittlung der CYP-Isoenzyme, die durch CAR gehemmt werden.....	142
5.2.2.4	Pharmakokinetische Interaktion von CAR mit CLO und QUE in therapeutischen Konzentrationen.....	143
5.2.3	Einfluss der Antipsychotika auf den Metabolismus der β -Adrenozeptor- Antagonisten	144
5.2.3.1	Metabolisierung über humane Leberzellmikrosomen	144
5.2.3.2	Metabolisierung über rekombinante CYP2D6- und CYP1A2-Isoenzyme ...	144
5.2.4	Eignung eines Arzneistoffs für Experimente mit humanen Leberzellmikrosomen oder rekombinanten CYP-Isoformen abhängig vom Ausmaß des First-Pass-Effekts und der Halbwertszeit.....	145
5.3	KONBEST®-Auswertung	146
5.4	Therapeutisches Drug Monitoring von β -Adrenozeptor-Antagonisten.....	147
5.4.1	Beurteilung der Serumkonzentrationen hinsichtlich des dosisbezogenen Referenzbereichs	147
5.4.1.1	Konzentrationsbestimmung von Bisoprolol	147
5.4.1.2	Konzentrationsbestimmung von Metoprolol	148
5.4.1.3	Konzentrationsbestimmung von Propranolol.....	150
5.4.1.4	Konzentrationsbestimmung von Carvedilol	151
5.4.1.5	Konzentrationsbestimmung von Atenolol	151
5.4.1.6	Konzentrationsbestimmung von Nebivolol und Timolol	152
5.4.2	Beurteilung der Serumkonzentrationen hinsichtlich des therapeutischen Referenzbereichs	152
5.5	Vergleich der über die mittlere Tageskonzentration und über die Minimalkonzentration berechneten dosisbezogenen Referenzbereiche	155
5.6	Grenzen des dosisbezogenen Referenzbereichs	157
5.7	Bewertung von TDM für β -Adrenozeptor-Antagonisten	160
6.	Zusammenfassung.....	162
7.	Anhang.....	165
7.1	Abkürzungsverzeichnis	165
7.2	Anforderungsbogen für Therapeutisches Drug Monitoring.....	166
7.3	Patientenproben.....	167
7.4	Publikationen und Posterbeiträge.....	180
7.5	Danksagung	182
7.6	Literaturverzeichnis	183

1. Einleitung

Das Krankheitsbild der Schizophrenie wurde bereits im Altertum beschrieben. Der Begriff „Schizophrenie“ wurde jedoch erstmals von dem Schweizer Psychiater Eugen Bleuler 1911 verwendet [1]. Als entscheidender Fortschritt galt die Entdeckung von Chlorpromazin als erstes Antipsychotikum durch Delay und Deniker 1952 [2], wodurch erstmals eine medikamentöse Behandlung der Schizophrenie möglich war. Aufgrund der Einführung weiterer Antipsychotika wurde die Therapie in den letzten Jahrzehnten stetig optimiert. Sie stellt aber weiterhin eine Herausforderung dar, bedingt durch die hohe Rezidivrate, die Schwere der Erkrankung, den beträchtlichen Kostenfaktor, das ungünstige Nebenwirkungsprofil und das erhebliche Interaktionsrisiko. Zudem tragen schizophrene Patienten ein höheres Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, wodurch ihre Lebenserwartung gegenüber der psychisch gesunden Bevölkerung sinkt [3–5]. Zur Behandlung eines hohen Blutdrucks und zur Entlastung des Herzens bei koronarer Herzerkrankung werden β -Adrenozeptor (AR)-Antagonisten eingesetzt.

Eine Auswertung der webbasierten Plattform KONBEST® zur klinisch-pharmakologischen Befundung von Wirkstoffkonzentrationen ergab, dass knapp 10 % der Proben, die im Labor für Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) auf die Antipsychotika Clozapin (CLO), Olanzapin (OLA) oder Quetiapin (QUE) untersucht wurden, einen β -AR-Antagonisten enthielten (siehe Kapitel 4.3). Berücksichtigt wurden in der Auswertung Bisoprolol (BIS), Metoprolol (MET) und Propranolol (PRO) als die am häufigsten verordneten β -AR-Antagonisten, Nebivolol (NEB) und Carvedilol (CAR) aufgrund ihrer zusätzlichen vasodilatatorischen Effekte, der hydrophile β -AR-Antagonist Atenolol (ATE) und Timolol (TIM), welches in Form von Augentropfen zur Behandlung des Offenwinkelglaukoms (Grüner Star) verwendet wird.

Die Problematik einer Kombination der betrachteten Antipsychotika mit β -AR-Antagonisten kann in einer möglichen pharmakokinetischen Interaktion bestehen. Sowohl die Antipsychotika als auch die β -AR-Antagonisten werden über dieselben Cytochrome-P450 (CYP)-Isoenzyme abgebaut, welche durch Vertreter beider Substanzklassen gehemmt werden. CLO und PRO werden beide als CYP2D6-Inhibitoren beschrieben [6–10]. Die Daten bezüglich CYP2D6-hemmender Eigenschaften von MET sind uneinheitlich. In einigen Quellen wird MET als schwacher Inhibitor beschrieben [8, 9, 11], andere Referenzen konnten jedoch keinen Hemmeffekt beobachten [10, 12, 13]. Alle betrachteten Wirkstoffe mit Ausnahme von ATE werden über CYP2D6 metabolisiert [6, 14–22] und können somit von den Hemmeffekten durch CLO, PRO und MET betroffen sein. Aus der Enzymhemmung resultiert ein verlangsamter Abbau der Antipsychotika und β -AR-Antagonisten, wodurch

deren Konzentrationen im Blut erhöht werden. Durch zu hohe Konzentrationen besteht für die Patienten ein erhöhtes Risiko für das Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen (UAW).

Neben der pharmakokinetischen Interaktion besteht auch die Möglichkeit einer pharmakodynamischen Interaktion. Die beiden Wirkstoffklassen zeigen ähnliche unerwünschte Arzneimittelwirkungen, deren Effekte sich in Kombination verstärken können. Sowohl Antipsychotika als auch β -AR-Antagonisten können zu Gewichtszunahme führen [23–27] und einen Anstieg der Triglyceride verursachen [24, 25, 28–33]. Weitere unerwünschte Effekte sind eine veränderte Glucosetoleranz [23, 34], Hyper- aber auch Hypoglykämie [25, 35–40] und eine verringerte Insulinsensitivität [33, 41]. Die gleichzeitige Therapie mit Antipsychotika und β -AR-Antagonisten stellt einen potentiellen Risikofaktor für das metabolische Syndrom dar. Es besteht ein erhöhtes Risiko einen bestehenden Diabetes mellitus zu verschlechtern oder sogar Typ-II-Diabetes auszulösen. Über den Antagonismus an adrenergen α_1 -Rezeptoren haben die drei Antipsychotika ebenfalls blutdrucksenkende Eigenschaften [42]. In Kombination mit β -AR-Antagonisten kann es aufgrund des additiven blutdrucksenkenden Effekts zu Blutdruckabfall und orthostatischer Hypotonie kommen. Des Weiteren zeigen β -AR-Antagonisten psychotrope Wirkungen. So können sie selbst Depressionen, Halluzinationen oder sogar Psychosen auslösen [43, 44]. Dadurch werden die Symptome einer Schizophrenie verstärkt und es kann zu einer zusätzlichen Belastung des Patienten kommen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mittels verschiedener Ansätze die Therapiesicherheit zu erhöhen. Für die bessere Einschätzbarkeit einer pharmakokinetischen Interaktion wurde durch Versuche anhand humaner Leberzellmikrosomen (HLM) und rekombinanter CYP-Isoenzymen die Enzymhemmung untersucht. Um rechtzeitig erhöhte Wirkstoffkonzentrationen im Serum zu erkennen, wurde Therapeutisches Drug Monitoring durchgeführt. Für die Antipsychotika OLA, CLO und QUE ist Therapeutisches Drug Monitoring im TDM-Labor der Arbeitsgruppe Klinische Pharmazie in Regensburg bereits etabliert, während TDM für β -AR-Antagonisten im Zuge dieser Arbeit eingeführt wurde. Voraussetzung für die Konzentrationsbestimmung der Antipsychotika und β -AR-Antagonisten im Serum und im Rahmen der Enzymversuche war die Entwicklung einer quantitativen Messmethode.

1.1 Antipsychotika

1.1.1 Anwendungsgebiete

Die in dieser Arbeit betrachteten Antipsychotika CLO, OLA und QUE sind zugelassen für die Behandlung von Schizophrenie. CLO sollte aufgrund der schweren Nebenwirkungen nur als letzte Behandlungsoption bei therapieresistenter Schizophrenie oder bei schizophrenen Patienten betrachtet werden, die mit schweren, nicht behandelbaren unerwünschten Arzneimittelwirkungen auf andere Antipsychotika reagieren. CLO ist auch bei Psychosen im Verlauf eines Morbus Parkinson nach Versagen der Standardtherapie angezeigt. OLA und QUE werden zusätzlich bei der Bipolaren Störung angewendet, zur Behandlung von manischen Episoden (QUE auch bei depressiven Episoden) und zur Rückfall- bzw. Phasenprophylaxe. Retardiertes QUE kann als Zusatztherapie bei depressiven Erkrankungen (Episoden einer Major Depression) bei Patienten eingesetzt werden, die unzureichend auf die Monotherapie mit einem Antidepressivum angesprochen haben [42, 45–48].

In Tab. 1 sind die Indikationen der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Antipsychotika dargestellt.

Tab. 1 Übersicht der Anwendungsgebiete von CLO, QUE und OLA

	Schizophrenie	Bipolare Störung	Sonstige Anwendungsgebiete	Hinweise auf Wirksamkeit bei:
CLO	X (therapie-resistent)		Psychose bei M. Parkinson	- psychotischen Symptomen bei einer Lewy-Körper-Demenz - Suizidalität - Aggressivität
QUE	X	X - manische und depressive Episoden - Rückfallprophylaxe	Episoden einer Major Depression	- Psychosen bei M. Parkinson und einer Lewy-Körper-Demenz - therapieresistenter Zwangsstörung - Aggressivität & Impulskontrollstörung - Angststörung - Rapid Cycling - schwerer Panikstörung
QUE retard				
OLA	X	X - manische Episoden - Phasenprophylaxe		- therapieresistenter Zwangsstörung - Borderline-Persönlichkeitsstörungen - wahnhafter Depression - drogeninduzierter Psychose

[42, 45–48]

1.1.2 Pharmakodynamische Eigenschaften

Die pharmakodynamischen Eigenschaften sind unter den Antipsychotika sehr heterogen ausgeprägt, wodurch sich die Antipsychotika deutlich in ihrem Wirk- und Nebenwirkungsprofil unterscheiden. Allen gemeinsam ist jedoch der antagonistische Effekt an D_2 -Rezeptoren, dem über Dämpfung der dopaminergen Überaktivität im mesolimbischen System die antipsychotische Wirkung zugeschrieben wird. Die Beeinflussung weiterer dopaminergere Neuronensysteme, wie das nigrostriatale System oder das tuberoinfundibuläre System, führt zu typischen Nebenwirkungen einiger Antipsychotika, wie extrapyrimidalmotorische Störungen und eine erhöhte Prolaktinfreisetzung. Die Reduktion der Negativsymptome wird in der Blockade der 5-HT_{2A} -Rezeptoren vermutet [42, 44].

Die Besonderheit an CLO ist die potente antagonistische Wirkung am D_4 -Rezeptor, während die Affinität zum D_2 -Rezeptor, im Unterschied zu den meisten Antipsychotika, sehr niedrig ist. Des Weiteren ist CLO ein Antagonist am Histamin- H_1 -Rezeptor und an den Serotonin-Rezeptoren 5-HT_{2A} und 5-HT_{2C} . CLO zeigt auch eine Affinität zu α_1 -adrenergen und cholinergen M_1 - und M_4 -Rezeptoren. Eine niedrige Affinität wird zu den Dopamin-Rezeptoren D_1 , D_3 und D_5 , den Serotonin-Rezeptoren 5-HT_{1A} und 5-HT_3 sowie zu dem adrenergen α_2 - und cholinergen M_2 -Rezeptor beschrieben [42]. OLA ist ein Antagonist an den Dopamin-Rezeptoren D_1 - D_5 und den Serotonin-Rezeptoren 5-HT_{2A} , 5-HT_{2C} , 5-HT_3 und 5-HT_6 . Des Weiteren zeigt OLA Affinität zu H_1 -Rezeptoren, α_1 -adrenergen Rezeptoren und zu den muskarinergen Acetylcholin-Rezeptoren M_1 - M_5 [42, 46]. QUE wirkt antagonistisch an den Dopamin-Rezeptoren D_1 - D_3 und an den Serotonin-Rezeptoren 5-HT_1 und 5-HT_2 . An den 5-HT_{1A} -Rezeptoren zeigt QUE partialagonistische Effekte. Zudem besitzt QUE eine Affinität zu den H_1 -Rezeptoren und den adrenergen α_1 -Rezeptoren. Die antidepressive Wirkung vermutet man in der Hemmung des Noradrenalin-Transporters durch den Metaboliten N-Desalkylquetiapin und in dem 5-HT_{1A} -Partialagonismus, ebenfalls durch den Metaboliten und durch QUE [42, 47].

1.1.3 Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

Aufgrund der geringen Rezeptorselektivität wird die Therapie mit Antipsychotika meistens von einer Bandbreite an Nebenwirkungen begleitet. Typische unerwünschte Arzneimittelwirkungen sind das Auftreten von extrapyramidal-motorischen Störungen wie Früh dyskinesien, Parkinsonoid, Akathisie und Spätdyskinesien und durch die erhöhte Prolaktinfreisetzung bedingte Gynäkomastie bei Männern und Galaktorrhö und Amenorrhö bei Frauen. Unter CLO, OLA und QUE sind diese Nebenwirkungen jedoch weniger zu erwarten. Eine sehr gefürchtete Nebenwirkung stellt hier das maligne neuroleptische Syndrom dar, welches sich innerhalb von ein bis drei Tagen voll entwickelt und in 20 % der Fälle zum Tode führen kann. Symptome sind extrapyramidal-motorische Störungen wie Rigor und Akinesie, zudem hohes Fieber, vegetative Symptome wie Tachykardie, Tachypnoe und labiler Blutdruck. Des Weiteren können Bewusstseinsstörungen auftreten und es kann zu einer Erhöhung der Kreatinkinase und der Transaminasen kommen. Unter Einfluss der in dieser Arbeit betrachteten Antipsychotika CLO, OLA und QUE können vor allem anticholinerge Nebenwirkungen auftreten, wie Obstipation bis zum paralytischen Ileus, Miktionsstörungen, Tachykardie, Akkomodationsstörungen und Mundtrockenheit. Bei CLO ist jedoch häufig eine Hypersalivation zu beobachten. Die anticholinerge und antihistaminerge Wirkung führt zu Sedierung, die unter CLO, OLA und initial unter QUE besonders stark ausgeprägt ist. Aufgrund der Blockade von α_1 -Adrenozeptoren kann es zu einer arteriellen Hypotonie und einer orthostatischen Regulationsstörung kommen. Antipsychotika können auch starke Auswirkungen auf den Stoffwechsel haben: So führen CLO und OLA, aber auch QUE bei einem Großteil der Patienten zu einer deutlichen Gewichtszunahme. Es kann zu Glukosetoleranzstörungen, Hyperglykämien und zu einem Triglycerid- und LDL-Cholesterin-Anstieg kommen. Für Patienten, die eine Antipsychotika-Therapie durchlaufen, besteht somit ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines metabolischen Syndroms, insbesondere für die Entwicklung eines Diabetes und von Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Unter CLO können noch weitere schwerwiegende Nebenwirkungen auftreten. CLO kann eine Agranulozytose auslösen, das Risiko einer Myokarditis oder Kardiomyopathie erhöhen und die Krampfschwelle senken [42, 44–47].

1.1.4 Pharmakokinetische Eigenschaften

1.1.4.1 Resorption, Verteilung und Elimination

In Tab. 2 sind pharmakokinetische Eigenschaften wie Resorption, Bioverfügbarkeit, Plasmaproteinbindung, Verteilungsvolumen, apparente Clearance und Eliminationshalbwertszeit dargestellt.

Tab. 2 Pharmakokinetische Eigenschaften

	Resorption (%)	Bioverfügbarkeit (%)	Plasma-proteinbindung (%)	Verteilungsvolumen (l/kg)	apparente Clearance (ml/min)	Halbwertszeit (h)
CLO	90 - 95	50	>90	2 - 5	637 ± 367	12 - 16
OLA		80	93	10 - 20	372 ± 132	30 - 60
QUE		9	83	10	1072 ± 461	6 - 11
QUE ret.					596 ± 421	6 - 11

[45, 49, 50]

1.1.4.2 Biotransformation

In Tab. 3 sind die Stoffwechselwege dargestellt, die in der webbasierten Plattform KONBEST® zur klinisch-pharmakologischen Befundung für die Wirkstoffe CLO, OLA und QUE hinterlegt sind [51].

Tab. 3 KONBEST®-Stoffwechselwegetabelle

	1A2	2A6	2C8	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4
CLO	X	X	XH	XH	X	XH		XH
OLA	X	X	X	XH	XH	XH		XH
QUE						X		XH

X Substrat
H Hemmstoff

A Clozapin

Die Hauptmetaboliten von CLO stellen N-Desmethylclozapin und Clozapin-N-Oxid dar. Des Weiteren wird CLO in den Positionen 6, 7, 8 und 9 hydroxyliert und anschließend glucuronidiert oder sulfatiert. Der N-desmethylierte Metabolit ist pharmakologisch aktiv [50]. Nach Bildung eines reaktiven Intermediats (Nitrenium-Ion) über CYP-Enzyme wird CLO an verschiedenen Positionen mit Glutathion konjugiert. 7-Glutathionylclozapin und 8-Glutathionyl-8-deschloroclozapin werden weiter zu den jeweiligen Thiomethyl-Metaboliten umgewandelt [52]. Die am häufigsten gebildeten glucuronidierten Metaboliten stellen N-desmethyl-8-deschloro-8-hydroxyclozapin-O-Glucuronid, 7-Hydroxyclozapin-O-Glucuronid und Clozapin-N-Glucuronid dar [53].

CYP1A2 und CYP3A4 sind für die N-Desmethylierung verantwortlich, während die N-Oxidation über CYP3A4 unter geringfügiger Beteiligung der Flavin-Monooxygenase 3 (FMO3) verläuft [54–56]. Die Literatur über die beteiligten Enzyme ist sehr unterschiedlich. Nach Tugnait et al. (1999) ist an der N-Oxidation auch CYP1A2 beteiligt [57] und Pirmohamed et al. (1995) sah neben CYP3A4 auch CYP2C9 und CYP2E1 für die Bildung von Clozapin-N-Oxid verantwortlich [58]. Bei der N-Desmethylierung demonstrierten Linnet und Olesen (1997) neben CYP1A2 und CYP3A4 auch eine Beteiligung von CYP2C9, CYP2C19 und CYP2D6 [55]. Einen Anteil von CYP2D6 an der N-Desmethylierung stellte auch Tugnait et al. (1999) fest [57]. Polymorphismen des CYP2C9 und des CYP2D6 zeigten jedoch keine Auswirkungen auf die Pharmakokinetik von CLO [59–61].

Den Hauptanteil an der Biotransformation von CLO sah Jaquenoud Sirot et al. (2009) in CYP1A2 und CYP2C19 [59].

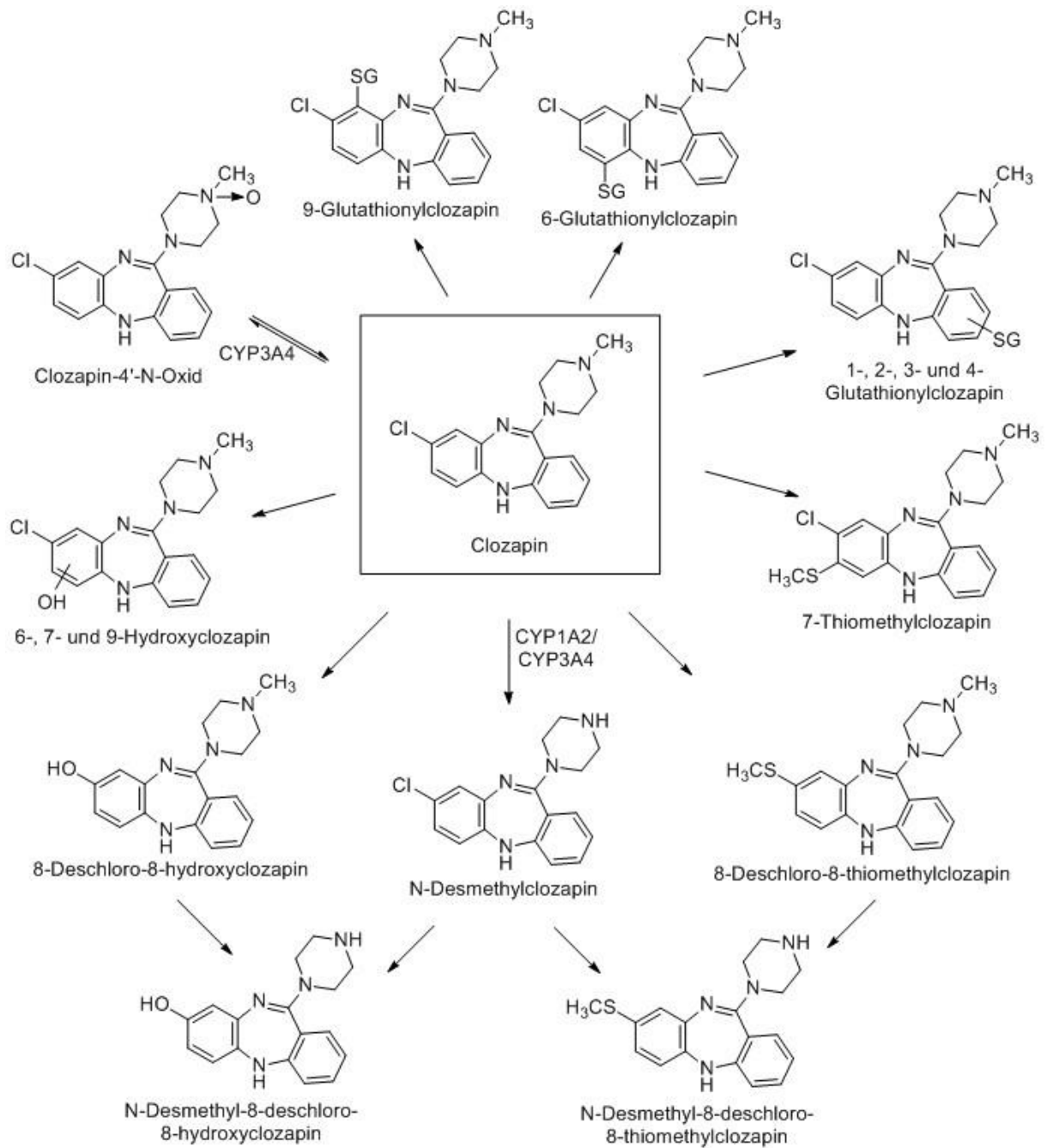


Abb. 1 Schema der Metabolisierung von Clozapin

Nach Dain et al. (1997), Dragovic et al. (2010) und Brittain (1993)
[52, 53, 62]

B Olanzapin

OLA wird zu 2-Hydroxymethyloanzapin, 4'-N-Desmethyloanzapin und Olanzapin-4'-N-Oxid metabolisiert. Die Bildung des N-Oxids erfolgt über die Flavin-Monooxygenase 3 (FMO3). CYP2D6 ist an der Bildung des 2-Hydroxy-Metaboliten beteiligt und CYP1A2 katalysiert die Desmethylierung. 4'-N-Desmethyloanzapin und Olanzapin-4'-N-Oxid stellen die Hauptmetaboliten der Phase-I-Reaktion dar [14, 63]. Bei der Entstehung von 4'-N-Desmethyloanzapin wird auch eine Beteiligung von CYP2C8 und CYP3A4 vermutet [64]. 4'-N-Desmethyloanzapin und 2-Hydroxymethyloanzapin können über ein Zwischenprodukt zu 4'-N-Desmethyl-2-carboxyloanzapin umgewandelt werden. Aus 2-Hydroxymethyloanzapin kann 2-Carboxyloanzapin als weiterer Metabolit gebildet werden [65]. Über UGT1A4 und UGT2B10 wird Olanzapin zum 10-N-Glucuronid und 4'-N-Glucuronid konjugiert [66]. Das 10-N-Glucuronid ist der meist gebildete Metabolit [14].

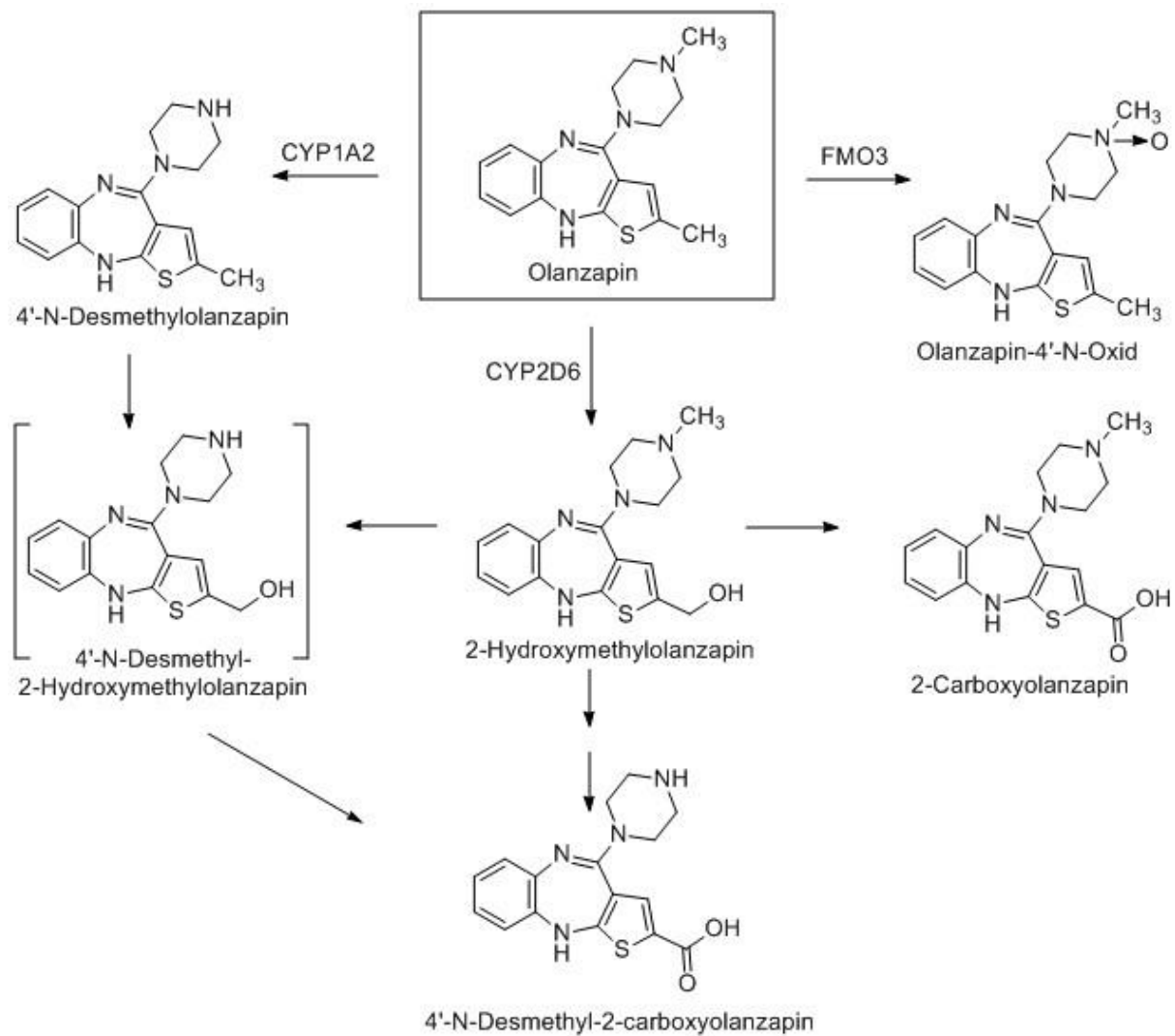


Abb. 2 Schema der Metabolisierung von Olanzapin

Nach Kassahun et al. (1996) [65]

C Quetiapin

QUE wird über N- und O-Desalkylierung, Sulfoxidierung und Hydroxylierung metabolisiert. Der Hauptmetabolit stellt das Quetiapinsulfoxid dar. Der Abbau wird hauptsächlich durch CYP3A4 und teilweise CYP3A5 katalysiert. An der Bildung von 7-Hydroxyquetiapin ist zudem CYP2D6 beteiligt [15, 67–70]. N-Desalkylquetiapin wird zu drei Metaboliten abgebaut. CYP3A4 katalysiert die Bildung von N-Desalkylquetiapinsulfoxid und dem nicht identifizierten Metabolit M3 [68]. Die Bildung von 7-Hydroxy-N-desalkylquetiapin erfolgt über CYP2D6. Während der Hauptmetabolit Quetiapinsulfoxid und das zur Carbonsäure oxidierte Quetiapin inaktiv sind, zeigen 7-Hydroxyquetiapin, N-Desalkylquetiapin und 7-Hydroxy-N-desalkylquetiapin pharmakologische Aktivität [68, 70]. Aufgrund der geringen Serumkonzentrationen der aktiven Metaboliten wird davon ausgegangen, dass sie nur untergeordnet am pharmakodynamischen Effekt von QUE beteiligt sind [70, 71].

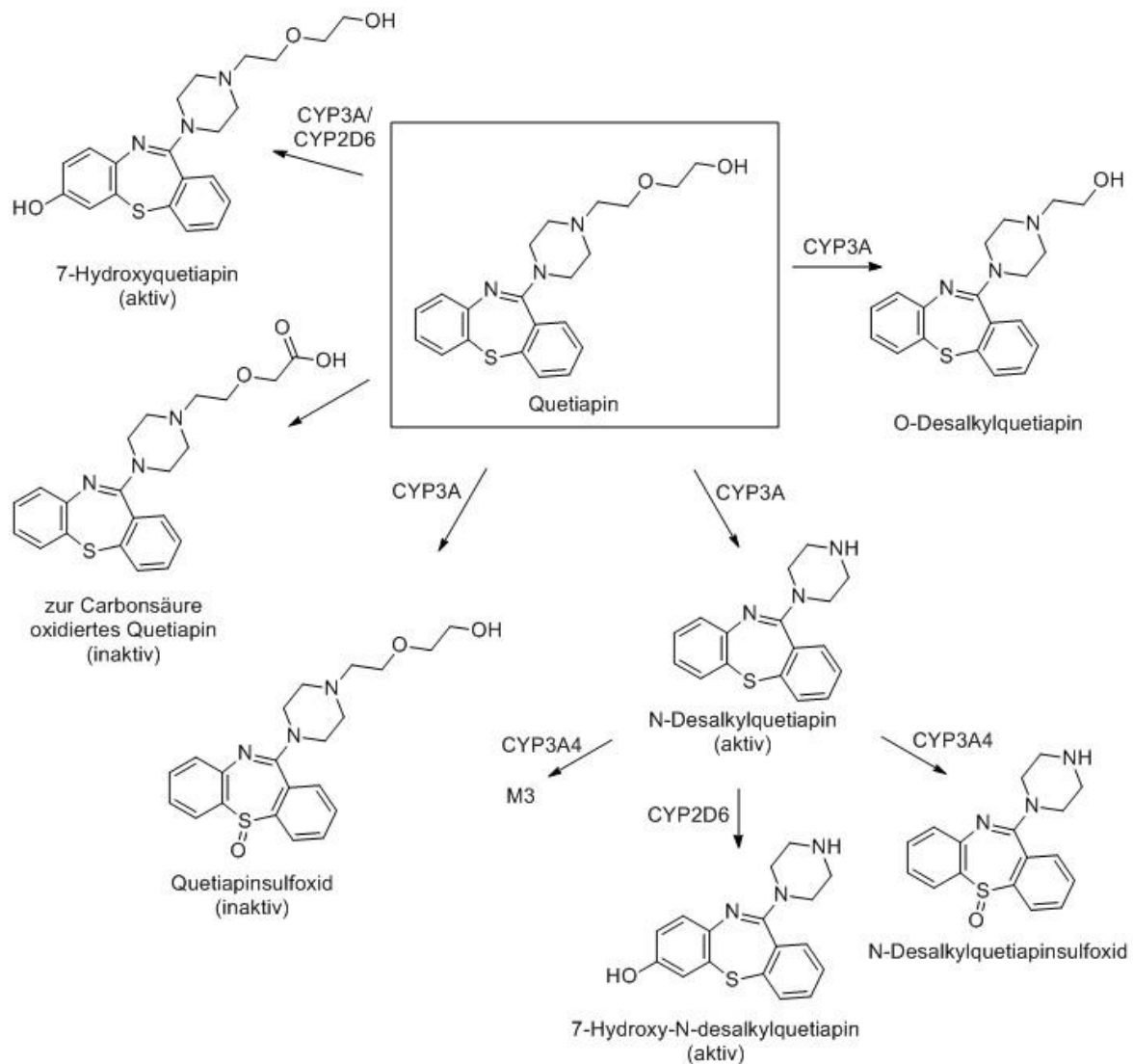


Abb. 3 Schema der Metabolisierung von Quetiapin

Nach DeVane und Nemeroff (2001) und Bakken et al. (2009, 2012) [68–70]

1.2 Beta-Adrenozeptor-Antagonisten

1.2.1 Anwendungsgebiete

β -AR-Antagonisten finden ihren Einsatz in der Behandlung von kardiovaskulären Erkrankungen wie arterielle Hypertonie und andere Hochdruckformen (wie portale Hypertonie und Phäochromozytom), stabile aber auch instabile Angina pectoris, hypertone Regulationsstörung und hyperkinetisches Herzsyndrom. Sie dienen zur Verminderung eines Infarkttrisikos, zur Akutbehandlung eines Myokardinfarktes und zur Reinfarktprophylaxe. Zudem finden sie Anwendung bei Herzrhythmusstörungen wie Sinustachykardie, supraventrikuläre und ventrikuläre Tachykardie, Vorhofflattern und -flimmern und das lange QT-Syndrom. Zur Behandlung der Herzinsuffizienz werden β -AR-Antagonisten einschleichend, mit niedrigen Dosen beginnend, verwendet. Des Weiteren werden sie zur Therapie des primären Angstsyndroms, bei essentiellem Tremor, zur Migräneprophylaxe, zur symptomatischen Behandlung der Hyperthyreose und in Form von Augentropfen bei Glaukom angewandt [43, 44, 44, 72–81].

In Tab. 4 sind die zugelassenen Indikationen der in dieser Arbeit betrachteten β -AR-Antagonisten dargestellt.

Tab. 4 Übersicht der Anwendungsgebiete von β -AR-Antagonisten

	Hyper- tonie	Angina pectoris	Herzin- suffizienz	hyperki- netisches Herz- syndrom	Arrhyth- mien	Herz- infarkt	Sonstige Anwendungs- gebiete
ATE	X	X		X	X	X	hypertone Regulationsstörungen
MET	X	X	X	X	X	X	Migräneprophylaxe
PRO	X	X		X	X	X	Migräneprophylaxe, Angstsyndrom, Tremor, Hyperthyreose
BIS	X	X	X				
CAR	X	X	X				
NEB	X		X				
TIM							Glaukom

[73–81]

1.2.2 Pharmakodynamische Eigenschaften

β -AR-Antagonisten unterscheiden sich in ihrer Selektivität für den β_1 - und den β_2 -Rezeptor, in der intrinsischen sympathomimetischen Aktivität, in der membranstabilisierenden Wirkung und in ihren physiochemischen Eigenschaften wie Lipophilie oder Stereospezifität [72].

Von den in dieser Arbeit betrachteten β -AR-Antagonisten blockieren PRO, CAR und TIM β_1 - und β_2 -Rezeptoren unselektiv, während ATE, BIS, MET und NEB zu den β_1 -selektiven β -AR-Antagonisten gehören. In höheren Dosen nimmt die Selektivität von ATE und MET für β_1 -Adrenozeptoren jedoch ab und die beiden β -AR-Antagonisten zeigen auch Einfluss auf β_2 -Rezeptoren [73, 74]. Bei BIS hingegen geht die β_1 -Selektivität über den therapeutischen Bereich hinaus [78].

β -AR-Antagonisten vermindern die Herzfrequenz, erniedrigen die Kontraktilität des Herzmuskels und reduzieren die Leitungsgeschwindigkeit im Atrioventrikularknoten. Des Weiteren führen sie zu einer Verminderung der Reizschwelle, wodurch die Erregbarkeit des Herzmuskels reduziert wird, und zu einer Reduktion der Relaxationsgeschwindigkeit des Myokards. Sie wirken somit negativ chronotrop, inotrop, dromotrop, bathmotrop und lusitrop [43, 44]. Die Wirkungen am Herzen, die Reninfreisetzung und die Lipolyse sind vor allem auf die β_1 -Adrenozeptoren zurückzuführen, während der Tonus der Gefäß-, Bronchial- und Uterusmuskulatur durch die β_2 -Adrenozeptor reguliert wird. Die Insulinfreisetzung, die Glykogenolyse, die Umwandlung von Thyroxin (T_4) in Triiodthyronin (T_3) und die Sekretion von Parathormon, Calcitonin und Glukagon ist ebenfalls β_2 -Adrenozeptor-vermittelt [43, 72]. CAR und NEB besitzen zusätzlich noch vasodilatatorische Eigenschaften. CAR wirkt hemmend auf die α_1 -Adrenozeptoren und antagonisiert somit die vasokonstriktorische Wirkung dieser Rezeptoren, während NEB die endotheliale Stickstoffmonoxid (NO)-Synthase aktiviert und dadurch die Bildung von NO aus L-Arginin erhöht [43, 72, 82].

Eine intrinsische sympathomimetische Aktivität oder partial agonistische Aktivität weist keiner der in dieser Arbeit behandelten β -AR-Antagonisten auf. Beispiele für β -AR-Antagonisten, die als partielle Agonisten fungieren, sind Pindolol und Acebutolol. Partielle Agonisten erreichen nicht die volle Wirkung wie reine Agonisten, weshalb man sich bei ihrer Anwendung eine weniger stark ausgeprägte Bradykardie oder periphere Durchblutungsstörung erhofft. Zudem wird auch ein abgemildertes Absetzphänomen (Rebound-Effekt) erwartet [43, 44, 72].

Die membranstabilisierende Wirkung einiger β -AR-Antagonisten ist auf die Blockade von spannungsabhängigen Na^+ - und Ca^{2+} -Kanälen zurückzuführen [44]. Membranstabilisierende Eigenschaften schreibt man vor allem PRO und CAR zu. BIS, MET und Tim zeigen nur einen schwachen Effekt, während ATE und NEB keine Wirkung zeigen [43, 73, 75, 76, 78, 79]. Der membranstabilisierende Effekt spielt jedoch erst in sehr hohen Dosierungen eine Rolle [43].

Von der Lipophilie sind verschiedene Parameter wie Dauer der β -Rezeptor-Blockade, Pharmakokinetik oder die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke abhängig [72]. PRO, CAR und NEB zählen zu den lipophilen β -AR-Antagonisten, BIS, TIM und MET zeigen eine schwächere Lipophilie und ATE gehört zu den hydrophilen β -AR-Antagonisten [44, 72]. Die Verwendung von ATE ist vor allem bei Patientin sinnvoll, die unter zentralnervösen unerwünschten Arzneimittelwirkungen leiden, wie z. B. Schlafstörungen, Psychosen, Depressionen und Halluzinationen [72]. Aufgrund ihrer Lipophilie werden einige β -AR-Antagonisten zur Verbesserung der Löslichkeit in Form ihrer Salze eingesetzt. NEB und PRO werden jeweils als Hydrochlorid angewendet, MET als Hemitartrat und Hemisuccinat, TIM als Hydrogenmaleat und BIS als Hemifumarat [74–76, 78, 80, 81].

Mit Ausnahme von TIM finden alle in dieser Arbeit betrachteten β -AR-Antagonisten Anwendung als Racemat. Die β -AR-antagonistische Wirkung wird mit Ausnahme von NEB bei allen β -AR-Antagonisten dem S-Enantiomer zugeschrieben, das R-Enantiomer ist inaktiv. NEB stellt mit seinen vier Stereozentren einen Sonderfall dar. Hier wird die β -AR-antagonistische Wirkung auf das D-(+)-SRRR-Enantiomer zurückgeführt. Im Gegensatz zu den anderen β -AR-Antagonisten ist bei NEB das β -AR-antagonistische wirkende Enantiomer somit an der Hydroxy-Gruppe R-konfiguriert. Der vasodilatatorische Effekt über Aktivierung der NO-Synthase wird dem L-(-)-RSSS-Enantiomer (S-Konfiguration an der Hydroxy-Gruppe) zugeschrieben [82, 83]. Der α_1 -Adrenozeptor-Antagonismus bei CAR erfolgt hingegen nicht stereoselektiv, hier zeigen beide Enantiomere gleich starke Wirkungen [84]. Bei einigen β -AR-Antagonisten erfolgt auch die Metabolisierung stereoselektiv (siehe Kapitel 1.2.4.2).

1.2.3 Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

Einige der unerwünschten Arzneimittelwirkungen lassen sich durch Verwendung von β_1 -selektiven β -AR-Antagonisten minimieren. Die durch β_2 -Adrenozeptor-Blockade verursachte Vasokonstriktion führt zu einer Verschlechterung peripherer Durchblutungsstörungen und einem Kältegefühl der Extremitäten. Die Bronchokonstriktion stellt eine Gefährdung von Patienten mit Bronchialasthma oder obstruktiver Lungenerkrankung dar, weshalb β -AR-Antagonisten in diesen Fällen kontraindiziert sind. Diabetiker sollten aufgrund von Gewichtszunahme, der Maskierung von hypoglykämischen Symptomen, der erniedrigten Insulinsensitivität und der möglichen Auslösung einer Hypoglykämie durch β -AR-Antagonisten einer sorgfältigen ärztlichen Überwachung unterliegen. Auch der Lipidstoffwechsel wird durch β -AR-Antagonisten negativ beeinflusst. Durch die Verwendung eines hydrophilen β -AR-Antagonisten wie ATE lassen sich zentralnervöse Nebenwirkungen

wie Schlafstörungen, Alpträume, Halluzinationen, Depressionen und Psychosen reduzieren [43, 44].

1.2.4 Pharmakokinetische Eigenschaften

1.2.4.1 Resorption, Verteilung und Elimination

β -AR-Antagonisten unterscheiden sich in ihren pharmakokinetischen Eigenschaften wie Resorption, Bioverfügbarkeit, Plasmaproteinbindung, Verteilungsvolumen, totale Clearance und Eliminationshalbwertszeit. In Tab. 5 sind die pharmakokinetischen Eigenschaften der verschiedenen β -AR-Antagonisten als Übersicht dargestellt.

Tab. 5 Pharmakokinetischen Eigenschaften

	Resorption (%)	Bioverfügbarkeit (%)	Plasma-proteinbindung (%)	Verteilungsvolumen (l/kg)	Zeit bis zum Konz.-maximum (h)	totale Clearance (ml/min)	Halbwertszeit (h)
ATE	50	50-60	3	0,7	2-4	100-180	6-9
BIS	> 90	88	30	3,2	1-2	205-308,3	10-12
CAR	85	25	98	2	1-2	500-700	7
MET	> 95	40-50*	12	5,6	1-2	1100	3-4
NEB	> 95	12	98	10?	2,7	860	22
PRO	> 90	30-40*	93	3,6	1-2	400	3-4
TIM	90	50-75*	10	1,4-3,5	1-2	560	5,5

*abhängig von der Dosis
[43, 72, 85, 86]

1.2.4.2 Biotransformation

In Tab. 6 sind die Stoffwechselwege dargestellt, die in KONBEST® für die Wirkstoffe MET, BIS, PRO, CAR, NEB, TIM und ATE hinterlegt sind [51].

Tab. 6 KONBEST®-Stoffwechselwegetabelle

	1A2	2A6	2C8	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4
MET					X	XH		X
BIS						X		X
PRO	XH			X	X	XH	I	X
CAR	X		X	X		X	X	X
NEB						X		X
TIM						XH		
ATE	Ausscheidung über die Niere							

X Substrat
H Hemmstoff
I Induktor

A Metoprolol

Für den Abbau von MET werden von Borg et al. (1975) drei Hauptmetabolisierungswege beschrieben:

1. Oxidative Desaminierung der Isopropylamino-Seitenkette
2. Aliphatische Hydroxylierung des Methoxyethyl-Substituenten zu α -Hydroxymetoprolol (H119/66)
3. O-Desalkylierung zum O-Desmethylmetoprolol (H105/22) und anschließender Oxidation zu einem Phenylelessigsäurederivat (H117/04)

Von Arfwidsson et al. (1976) wurden bei *in vivo* Versuchen an Ratten drei weitere Metaboliten (H119/72, H119/77, H119/68) entdeckt. Über O-Desmethylierung von α -Hydroxymetoprolol (H119/66) wird H119/72 gebildet. Über nachfolgende Oxidation entsteht H119/77, welches anschließend zu H119/68 decarboxyliert wird. Alternativ können H119/72 und H119/77 auch durch Hydroxylierung von O-Desmethylmetoprolol (H105/22) bzw. Phenylelessigsäurederivats (H117/04) gebildet werden (siehe Abb. 4) [87, 88].

Hauptmetabolit stellt das Phenylelessigsäurederivat (H117/04) dar [87]. Sowohl α -Hydroxymetoprolol (H119/66) als auch O-Desmethylmetoprolol (H105/22) weisen β -Adrenozeptor-blockierende Eigenschaften auf. Im Vergleich zu MET zeigen sie jedoch eine zwei- bis achtmal geringere Aktivität und haben keine klinisch relevante Wirksamkeit [87, 89]. Das CYP2D6 ist maßgeblich für die Bildung von α -HMET und zum Teil auch von O-Desmethylmetoprolol verantwortlich [90–92]. Die Metabolisierung von MET zu α -HMET über CYP2D6 erfolgt stereoselektiv mit einer Präferenz zum R-(+)-Enantiomer [92]. Welche Rolle CYP2D6 im Abbau von MET spielt, zeigt eine Studie von Batty et al. 2014. Die Plasmakonzentrationen von MET waren in der „intermediate metabolizer“ (IM)-Gruppe im Vergleich zur „extensive metabolizer“ (EM)-Gruppe um das 2,1-Fache und in der „poor metabolizer“ (PM)-Gruppe um das 4,6-Fache erhöht [93].

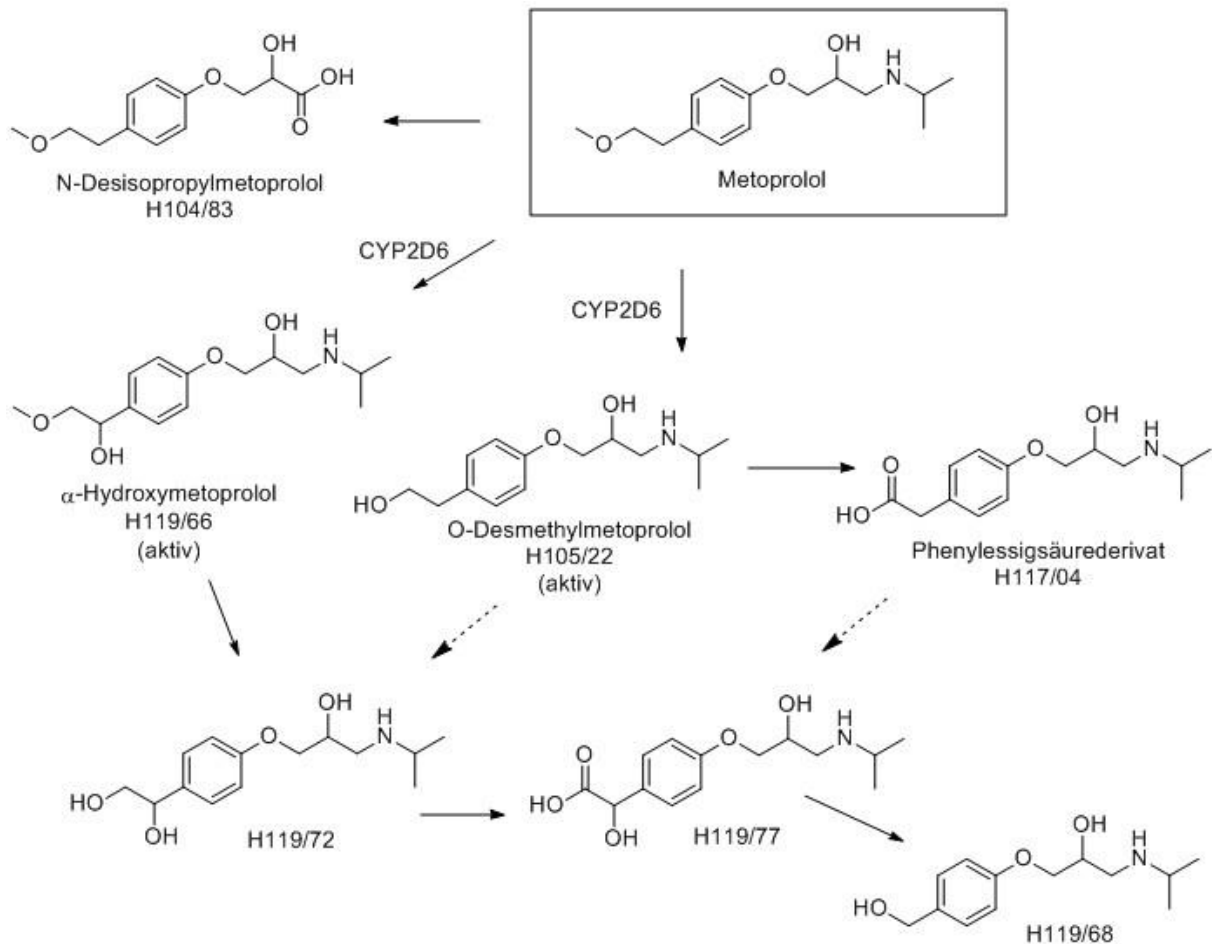


Abb. 4 Schema der Metabolisierung von Metoprolol

Nach Borg et al. (1975) und Arfwidsson et al. (1976) [87, 88]

B Bisoprolol

BIS wird ungefähr zur Hälfte in die drei Metaboliten M1, M2 und M3 umgewandelt (siehe Abb. 5). Die anderen 50 % einer verabreichten BIS-Dosis werden unverändert über die Nieren ausgeschieden [94]. Der Hauptabbauweg verläuft über O-Desisopropylierung unter Beteiligung der CYP-Enzyme 2D6 und 3A4 zu einem pharmakologisch aktiven Intermediat (M4) [16, 86, 94]. Dieses konnte *in vivo* beim Menschen allerdings nicht nachgewiesen werden und tritt vermutlich als Zwischenstufe nur in Spuren auf [86]. Über die anschließende Oxidation zur Carbonsäure wird der Metabolit M1 gebildet, der mit einem Anteil von mehr als 20 % der verabreichten BIS-Dosis den Hauptmetaboliten darstellt. Der Metabolit M2 entsteht nach Hydroxylierung von BIS und folgender Oxidation zur Carbonsäure. Die Bildung des Metaboliten M3 erfolgt ebenfalls über Oxidation zur Carbonsäure, jedoch eines O-desalkylierten Intermediats. Die Metaboliten M2 und M3 stellen jeweils weniger als 5 % der BIS-Dosis dar [86]. CYP2D6 zeigt eine 1,5-fach höhere Aktivität für die O-Desisopropylierung

von (R)-(+)-Bisoprolol als im Vergleich zum (S)-Enantiomer [16]. Ein stereoselektiver Metabolismus durch CYP2D6 wurde auch schon bei MET beschrieben [92]. Über CYP3A4 erfolgt der Abbau von BIS nicht stereoselektiv [16]. Der geringe stereoselektive Unterschied in der Pharmakokinetik der BIS-Enantiomere ist jedoch nicht von klinischer Relevanz [16, 95]. Horikiri et al (1998) ermittelt einen Beitrag von CYP2D6 an der totalen Clearance von 7 % und für CYP3A4 von 28 %. CYP2D6 spielt somit am Metabolismus von BIS eine untergeordnete Rolle und auch CYP2D6-Polymorphismen dürften für die Beeinflussung der BIS-Serumkonzentrationen von geringerer Bedeutung sein [16].

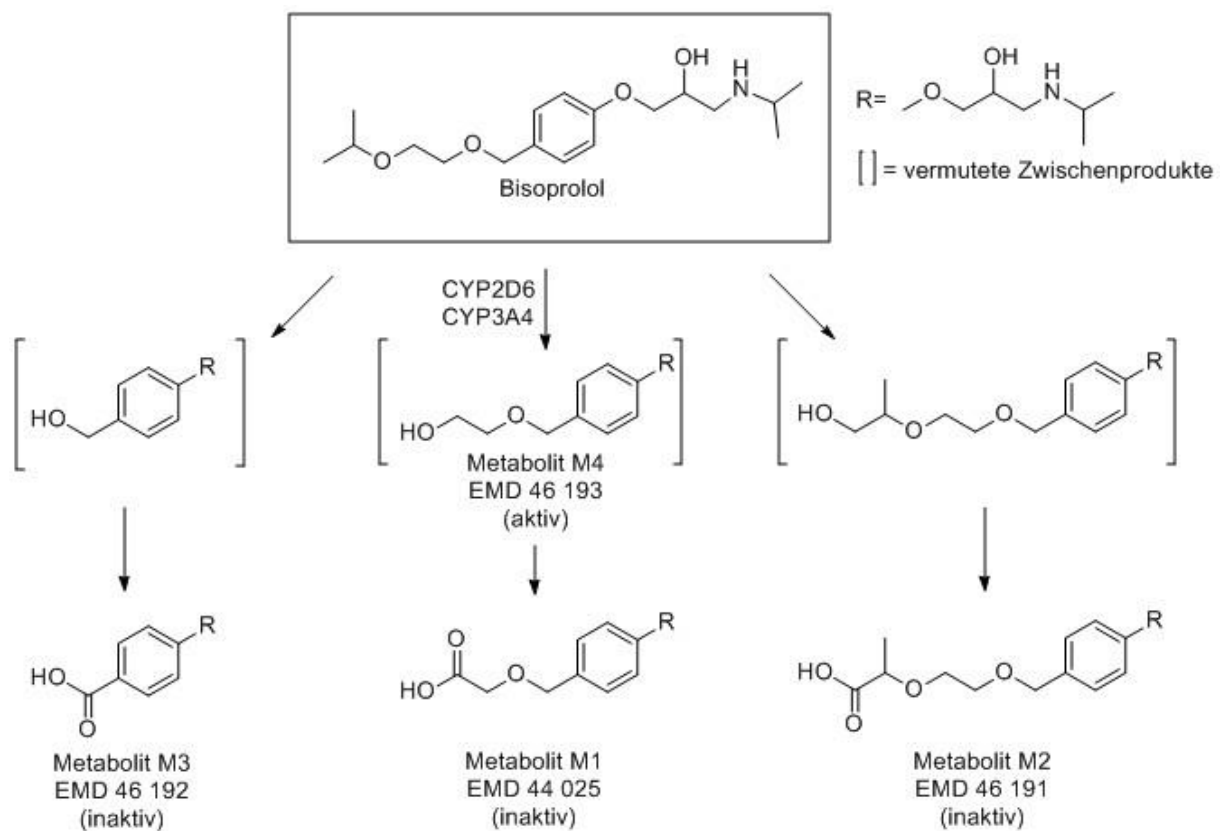


Abb. 5 Schema der Metabolisierung von Bisoprolol

Nach Leopold et al. (1986) [86]

C Propranolol

PRO wird über drei Hauptabbauwege metabolisiert:

1. Ringhydroxylierung zu 4-Hydroxy- und 5-Hydroxypropranolol
2. Desisopropylierung und oxidativer Desaminierung der Seitenkette
3. O-Glucuronidierung

[20, 96, 97]

Die Ringhydroxylierung von PRO zu 4-Hydroxy- und 5-Hydroxypropranolol wird fast ausschließlich von CYP2D6 katalysiert [20, 98–100]. Zudem wird eine geringe Beteiligung von CYP3A4 und CYP1A2 angenommen [99, 101]. Die N-Desisopropylierung verläuft hauptsächlich über CYP1A2 und zum Teil über CYP2D6 [20, 98, 100]. Auch eine Beteiligung von CYP2C9 und 2C19 wird nicht ausgeschlossen [20, 99]. Die oxidative Desaminierung zum intermediären Aldehyd wird vermutlich durch die Monoaminoxidase (MAO) katalysiert [97]. Der intermediäre Aldehyd kann anschließend entweder über die Aldehyd-Reduktase zu dem zugehörigen Alkohol, einem Glykol-Derivat, reduziert werden oder über die Aldehyd-Dehydrogenase zur Carbonsäure (α -Naphthoxymilchsäure, NLA) oxidiert werden. In einem weiteren Schritt wird NLA in α -Naphthoxyessigsäure (NAA) umgewandelt. Das Glykol-Derivat (1-(α -naphthoxy)-2,3-propylenglykol) kann zu 4-Hydroxy-1-(α -naphthoxy)-2,3-propylenglykol hydroxyliert werden [97]. Den Hauptmetabolit stellt α -Naphthol dar. Jedoch ist nicht geklärt, ob α -Naphthol und auch Dihydroxynaphthalen direkt aus PRO bzw. 4-Hydroxypropranolol gebildet werden, oder über Zwischenstufen nach sukzessiver Spaltung der Seitenkette entstehen [97]. Sowohl 4-Hydroxypropranolol als auch N-Desisopropylpropranolol zeigen β -Adrenozeptor-blockierende Eigenschaften [102, 103].

Trotz des Anteils von CYP2D6 am Metabolismus von PRO konnte kein Einfluss des CYP2D6-Phänotyps auf die Serumkonzentrationen von PRO festgestellt werden. Apparente Clearance und Halbwertszeit waren auch bei langsamen Metabolisierern unverändert. Hier wird PRO dann vermehrt über CYP1A2 zu N-Desisopropylpropranolol abgebaut [104].

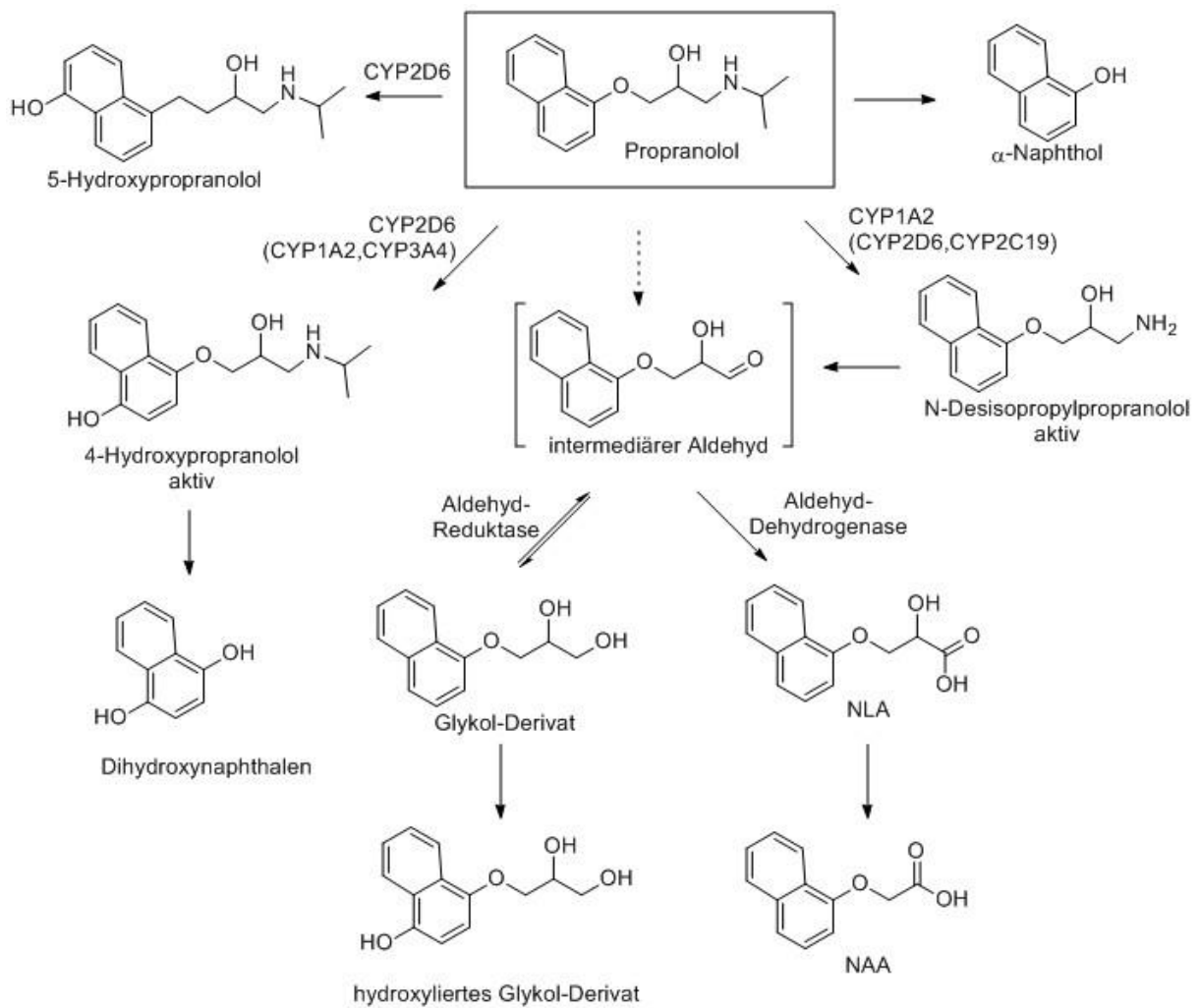


Abb. 6 Schema der Metabolisierung von Propranolol

Nach Walle et al. (1972) [97]

D Carvedilol

Die Biotransformation von CAR erfolgt über O-Desmethylierung und durch Hydroxylierung sowohl des Phenylrings als auch des Carbazol-Substituenten. Vor allem CYP2D6, aber auch CYP1A2 und CYP2C9 stellen die Hauptabbauenzyme dar. Zu geringen Teilen sind auch weitere CYP-Isoenzyme an der Elimination von CAR involviert, wie CYP1A1, CYP2C19, CYP2E1 und CYP3A4. Die Hydroxylierung zu 4'-Hydroxy- und 5'-Hydroxycarvedilol erfolgt hauptsächlich über CYP2D6 unter Beteiligung von CYP2E1, CYP2C9 und CYP3A4. 8-Hydroxycarvedilol wird in erster Linie über CYP1A2 mit zusätzlicher Beteiligung von CYP3A4 gebildet. Für die Abspaltung des Methylrests zu O-Desmethylcarvedilol ist neben CYP2D6 vor allem CYP2C9 verantwortlich und geringfügig CYP1A2 und CYP2E1. Die

Metabolisierung von CAR erfolgt stereoselektiv. An der Biotransformation des (R)-Enantiomers von CAR ist maßgeblich CYP2D6 beteiligt, während bei der Metabolisierung des (S)-Enantiomers auch die weiteren beschriebenen CYP-Isoenzyme zu größeren Anteilen involviert sind [22, 105]. Die drei durch Hydroxylierung und Demethylierung am Phenolring entstehenden Metaboliten zeigen alle β -rezeptorblockierende Aktivität. Für 4'-Hydroxycarvedilol wurde eine 13-fach stärkere Wirkung beobachtet. Im Vergleich zu Carvedilol haben die drei Metaboliten jedoch nur eine schwach vasodilatatorische Aktivität und kommen in 10-mal geringeren Konzentrationen vor [79].

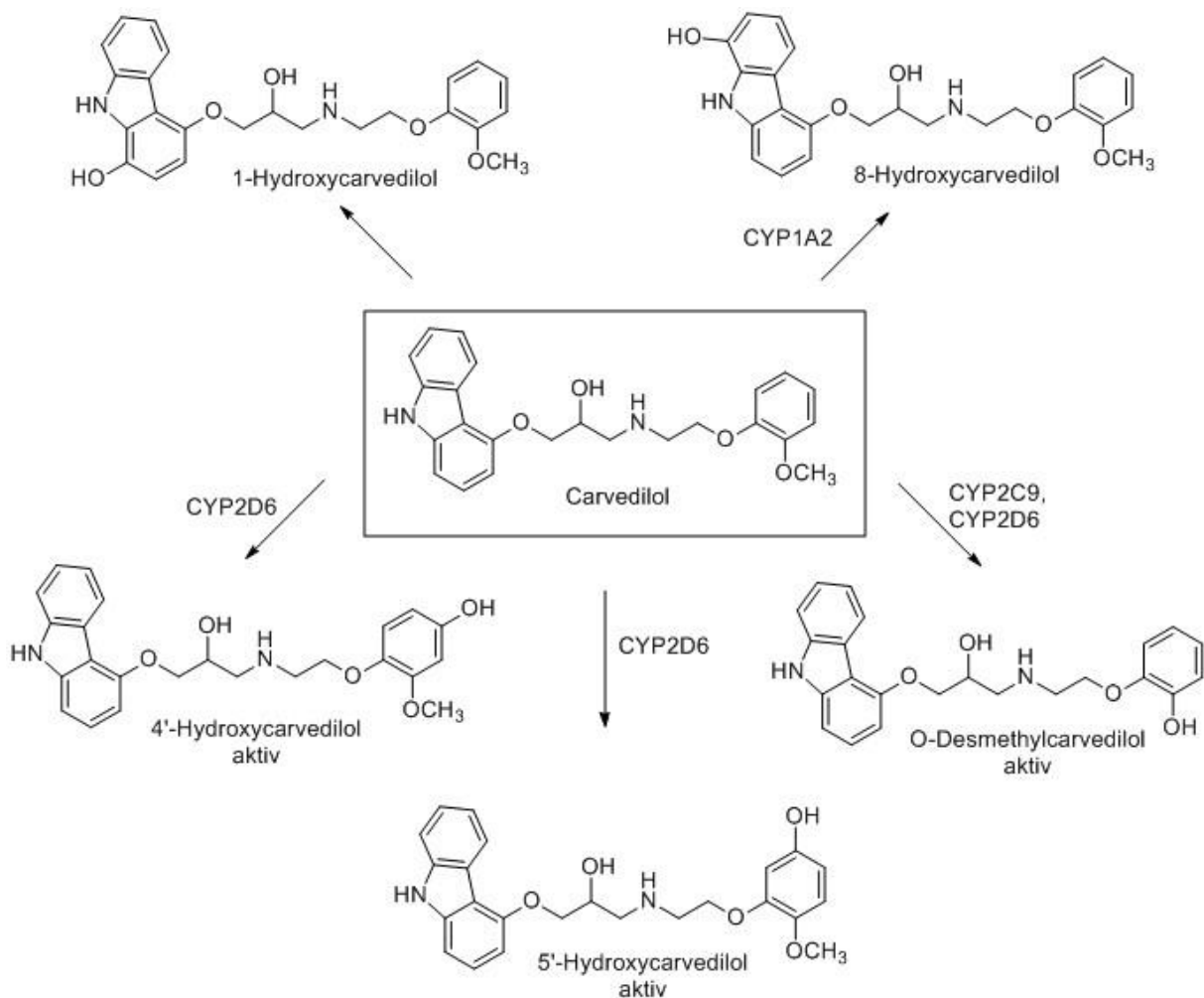


Abb. 7 Schema der Metabolisierung von Carvedilol

Nach Oldham und Clarke (1997) [22]

E Nebivolol

Die Metabolisierung von NEB verläuft über N-Desalkylierung mit anschließender aliphatischer Hydroxylierung und Oxidation zur Carbonsäure, alicyclischer und aromatischer Hydroxylierung und Glucuronidierung sowohl der Metaboliten als auch der Muttersubstanz. Die alicyclisch-hydroxylierten Metaboliten können zum entsprechenden Keton oxidiert werden [18, 106, 107]. Es wird angenommen, dass die N-Desalkylierung CYP3A4-vermittelt verläuft [107]. Die Hydroxy-Metaboliten werden über CYP2D6 gebildet [18] und sind pharmakologisch aktiv [108]. Die aromatisch-hydroxylierten Metaboliten besitzen dieselbe β -Adrenozeptor-antagonistische Aktivität wie die Muttersubstanz, während die alicyclisch-hydroxylierten Metaboliten schwächer wirksam sind. Die dealkylierten und glucuronidierten Metaboliten sind inaktiv [85]. Es besteht eine starke Abhängigkeit der NEB-Konzentration vom Metabolisierungsstatus. Bei langsamen Metabolisierern wurden 10- bis 15-fach höhere Plasma-Konzentrationen beobachtet [17]. Die Gesamtkonzentration von NEB und den aktiven Metaboliten ist bei langsamen Metabolisierern und extensiven Metabolisierern jedoch gleich. Aufgrund der aktiven Metaboliten hat der Metabolisierungsstatus keinen größeren Einfluss auf die pharmakodynamischen Effekte von NEB [17, 85].

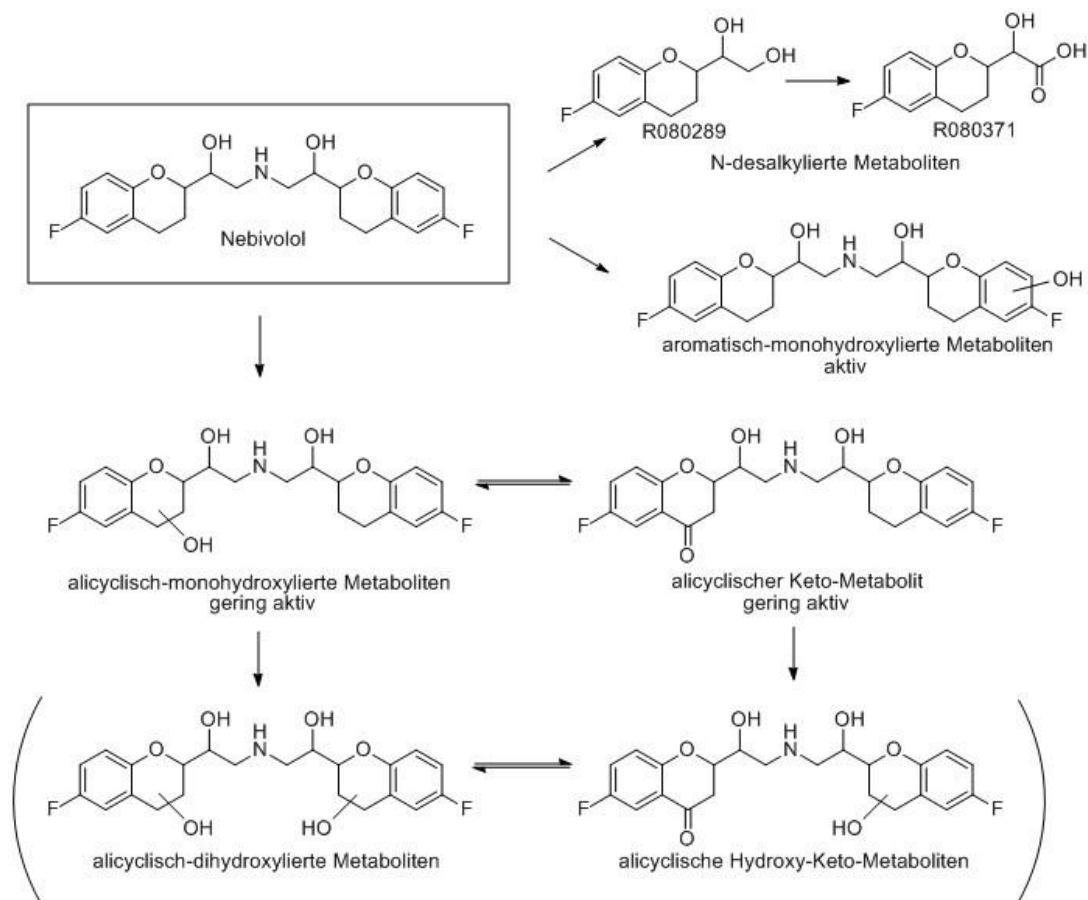


Abb. 8 Schema der Metabolisierung von Nebivolol

Nach Hendrickx et al. (1996) [106]

F Timolol

In Versuchen mit kryokonservierten Hepatozyten konnten neun Metaboliten ermittelt werden, wohingegen über HLM nur vier dieser Metaboliten (M1, M4, M5 und M6) nachgewiesen wurden (siehe Abb. 9) [109]. Sowohl M1 als auch M2 werden über Hydroxylierung gebildet. M1, der Hauptmetabolit, wird am Morpholin-Ring an einem der beiden Kohlenstoffatome benachbart zum Sauerstoff hydroxyliert, während bei M2 eine der Methylgruppen des Isobutylsubstituenten hydroxyliert wird. M3 entsteht durch N-Oxidation. Alle weiteren Metaboliten werden aus M1 gebildet. Durch Dehydratisierung wird M4 formiert. M5 entsteht durch Hydroxylierung unter Ringöffnung, welches über Oxidierung zur Carbonsäure zu M6 abgebaut wird. Die Bildung von M7 erfolgt durch eine weitere Hydroxylierung des Morpholin-Rings. M8 ist ebenfalls dihydroxyliert und zusätzlich dehydriert. Möglicherweise ist M8 ein Intermediat von M7 zu M6. Der neunte Metabolit stellt das glucuronidierte TIM dar [109]. Die Biotransformation von TIM verläuft über CYP2D6 und CYP2C19. Auch eine geringe Beteiligung von CYP3A4 wird angenommen. Das Hauptabbauenzym stellt CYP2D6 mit einem Anteil am Metabolismus von ca. 90 % dar [21, 110]. CYP2C19 ist mit weniger als 10 % an der Biotransformation von TIM beteiligt [21]. Aufgrund des hohen Beitrags von CYP2D6 an der Metabolisierung von TIM, ist eine Beeinflussung der Wirkstoffkonzentration im Blut durch den Metabolisierungsstatus zu erwarten. Bei langsamen Metabolisierern wurden im Vergleich zu extensiven Metabolisierern doppelt so hohe Plasmakonzentrationen beobachtet [91, 111].

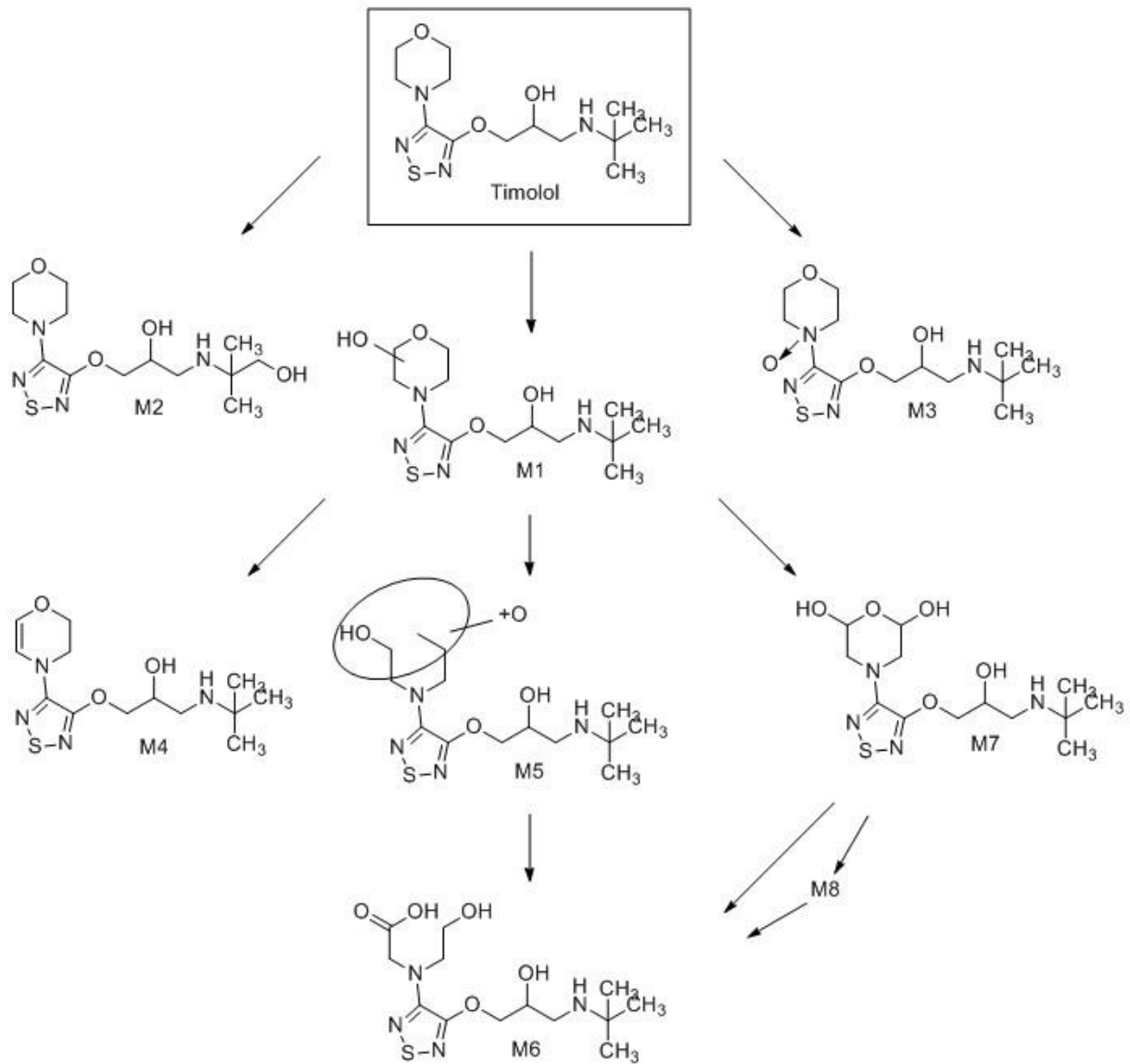


Abb. 9 Schema der Metabolisierung von Timolol

Nach Volontinen et al. (2009) [109]

1.3 Die Cytochrom-P450-Enzymfamilie

1.3.1 Bedeutung der Cytochrom-P450-Enzyme an der Metabolisierung von Xenobiotika

Die Cytochrom-P450-(CYP)-Enzyme spielen im Phase-I-Metabolismus von Fremdstoffen, aber auch von körpereigenen Substanzen eine entscheidende Rolle. In der Phase I finden Funktionalisierungsreaktionen statt, indem entweder funktionelle Gruppen in das unpolare Molekül eingefügt werden oder entsprechende funktionelle Gruppen freigelegt werden. Wesentliche Phase-I-Reaktionen sind Oxidation, Reduktion, Hydrolyse und Hydratisierung. Für Oxidationen sind die CYP-Enzyme als mischfunktionelle Monooxygenasen von zentraler Bedeutung. Zu den CYP-katalysierten Reaktionen zählen unter anderem aliphatische und aromatische Hydroxylierung, Epoxidierung, N- und S-Oxidation, Desaminierung, N- und O-Desalkylierung, Entschwefelung und oxidative Dehalogenierung.

Beim Phase-II-Metabolismus handelt es sich um Konjugationsreaktionen. Über Transferasen werden die funktionellen Gruppen mit sehr polaren endogenen Molekülen gekoppelt. Beispiele für wichtige Phase-II-Reaktionen sind Glucuronidierung, Sulfatierung, Methylierung, Acetylierung und Konjugation mit Glutathion und Aminosäuren.

Sowohl über Phase-I- als auch über Phase-II-Reaktionen werden die meist unpolaren Wirkstoffe in deutlich hydrophilere Moleküle umgewandelt um eine renale Ausscheidung zu ermöglichen [44].

1.3.2 Struktur und Wirkweise

Cytochrom P450-Enzyme gehören zu den Hämoproteinen, die als prosthetische Gruppe eine Häm-Gruppe mit Eisen als Zentralatom enthalten, und sind in der Membran des endoplasmatischen Retikulums verankert. Das Zentralatom liegt als Fe^{3+} vor und besitzt sechs Koordinationsstellen, von denen vier mit Stickstoff aus dem Porphyrinring des Häms besetzt sind und die Fünfte mit einem Cystein-Schwefel des Apoproteins. Als sechster Ligand ist ein Wassermolekül koordiniert. Durch Bindung eines Substrats am aktiven Zentrum löst sich der labile Wasserligand von der prosthetischen Gruppe (siehe Abb. 10 B). Nach Reduktion des Zentralatoms zu Fe^{2+} mithilfe der NADPH-Cytochrom-P450-Reduktase wird molekularer Sauerstoff als sechster Ligand gebunden (siehe Abb. 10 C/D). Durch Aufnahme eines weiteren Elektrons über die NADPH-Cytochrom-P450-Reduktase oder über Cytochrom b_5 und zwei Protonen wird unter Entstehung von Wasser der Sauerstoff aktiviert und auf das Substrat übertragen. Dabei wird Fe^{2+} wieder zu Fe^{3+} oxidiert (siehe Abb. 10 E-A) [44, 112].

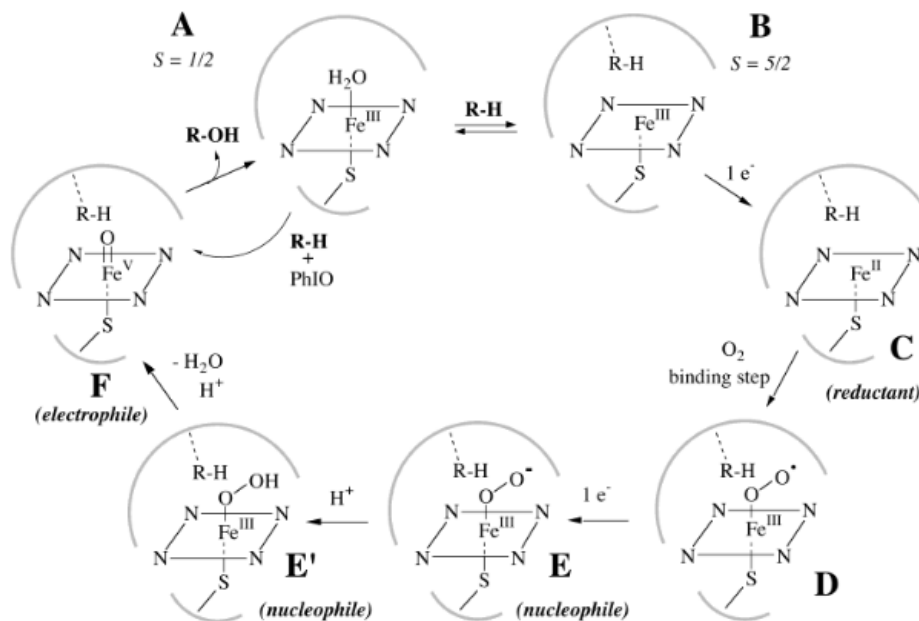


Abb. 10 Schematische Darstellung des katalytischen Mechanismus' des Cytochrom P450-Monooxygenase-Systems

Entnommen aus Meunier et al. (2004) [112]

1.3.3 Vorkommen, Einteilung und Verteilung

Die Cytochrom-P450-Enzyme kommen ubiquitär vor und sind in Bakterien, Pflanzen und Tieren zu finden. Beim Menschen ist die Leber das Organ mit dem höchsten CYP-Gehalt. Sie weist 90 – 95 % des Gesamtgehalts an CYP-Enzymen auf. Des Weiteren sind CYP-Enzyme auch im Gastrointestinaltrakt, in Lunge, Niere und Gehirn zu finden [113, 114].

Die Einteilung der CYP-Enzyme erfolgt nach der Sequenzhomologie der Aminosäuren. Alle Enzyme mit einer Homologie von > 40 % werden einer Familie und von > 55 % einer Subfamilie zugeordnet. In der Schreibweise folgt nach „CYP“, als Abkürzung für Cytochrom P450, eine arabische Ziffer für die Familie. Hinter einem Großbuchstaben für die Subfamilie wird über eine weitere arabische Ziffer die Isoform gekennzeichnet [115].

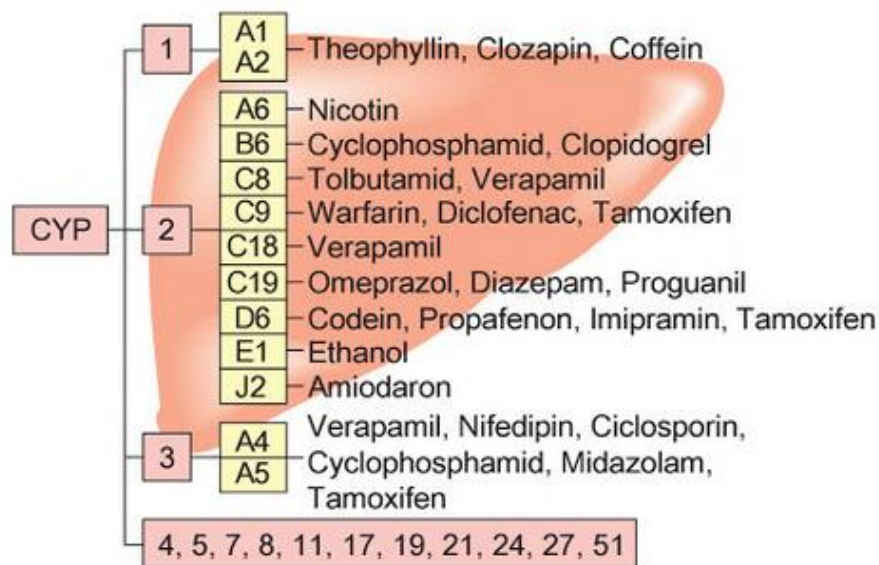


Abb. 11 Systematik der humanen Cytochrom P450-Enzyme

*Übersicht der für den Arzneistoffmetabolismus relevanten Isoformen der Genfamilien 1, 2 und 3 mit Beispiel-Wirkstoffen, die über diese Isoformen metabolisiert werden.
Entnommen aus Aktories et al. (2005) [44]*

Im menschlichen Körper sind 12 Isoformen der Genfamilien 1, 2 und 3 von Bedeutung (siehe Abb. 11), die 70 % des hepatischen CYP-Gehalts ausmachen und verantwortlich für den Großteil aller Arzneistoffumsetzungen im Phase-I-Metabolismus sind [113]. CYP-Enzyme der Familie 4 metabolisieren weit weniger Xenobiotika und besitzen meist Fettsäuren als Substrate. Die Biotransformation endogener Substanzen findet über CYP-Enzyme der Familien 5 bis 51 statt [116].

CYP3A4 stellt mit einem Anteil von knapp 30 % des gesamten CYP-Gehalts und einer Beteiligung von fast 40 % am Fremdstoffmetabolismus die wichtigste Isoform dar. Die zweitgrößte Bedeutung am Arzneistoffabbau zeigt CYP2D6 mit einem Anteil von annähernd

19 %, es beträgt jedoch nur 2 % des CYP-Gehalts in der Leber. Die Isoformen der 2C-Subfamilie machen 20 %, CYP1A2 13 %, CYP2E1 7 %, CYP2A6 4 % und CYP2B6 weniger als 1 % des gesamten hepatischen CYP-Gehalts aus. An dem Arzneistoffmetabolismus sind CYP2C8/9 zu 15 %, CYP1A1/2 zu 10 %, CYP2C19 zu 8 %, CYP2E1 zu 4 % und CYP2A6 zu 3 % beteiligt (siehe Abb. 12) [117, 118]. Der Gehalt von CYP2B6, CYP2C19 und CYP2D6 ist aufgrund der polymorphen Expressierung sehr variabel [44].

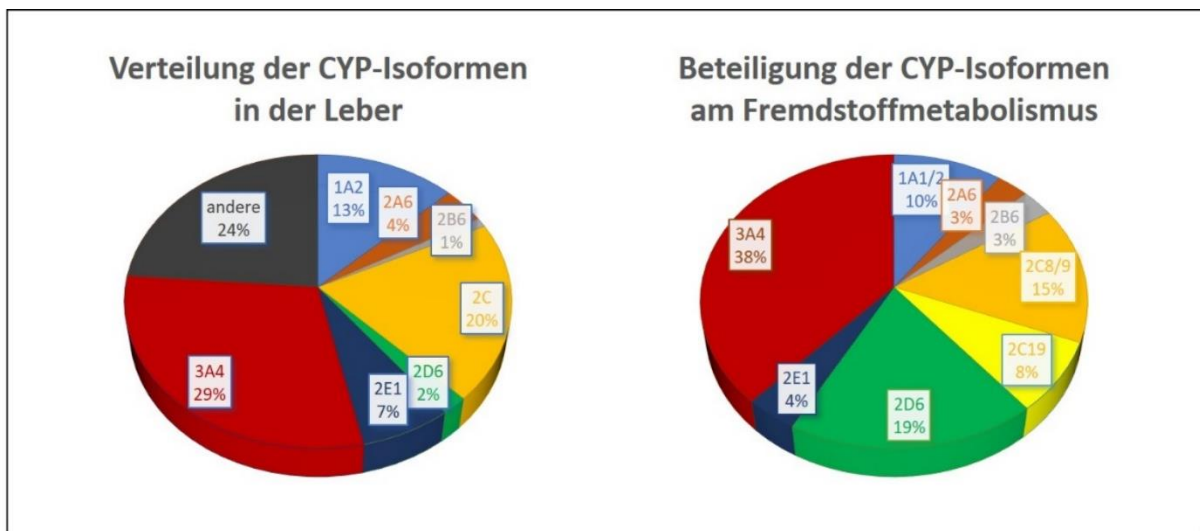


Abb. 12 Prozentualer Anteil der einzelnen CYP-Isoformen an den in der Leber exprimierten CYP-Enzymen (links) und relative Beteiligung am CYP-vermittelten Fremdstoffmetabolismus (rechts)

Nach Shimada et al. (1994) und Freissmuth et al. (2016) [117, 118]

1.3.4 Beeinflussung der CYP-Aktivität

CYP-Enzyme haben eine breite Substratspezifität. Trotz unterschiedlicher chemischer Struktur der Substrate ist eine Verstoffwechslung über dasselbe Enzym möglich. Die Konkurrenz verschiedener Arzneistoffe um das aktive Zentrum ist als einer der Gründe für pharmakokinetische Interaktionen zu sehen. Nicht nur Xenobiotika, sondern auch Umwelteinflüsse oder das Ernährungsverhalten können den Metabolismus inhibieren oder induzieren.

Zusätzlich haben vor allem auch genetische Faktoren einen Einfluss auf den Arzneistoffmetabolismus. Viele der wichtigen arzneistoffmetabolisierenden CYP-Enzyme werden polymorph exprimiert. Durch diese Genvarianten können bestimmte Enzyme nicht gebildet werden oder sind in ihrer katalytischen Aktivität verändert.

So können langsame (*poor metabolizer*, PM), intermediäre (*intermediate metabolizer*, IM), normale (*extensive metabolizer*, EM) und ultraschnelle (*ultrarapid metabolizer*, UM) Metabolisierer auftreten. Langsame Metabolisierer weisen zwei nicht funktionelle Allele auf. Dadurch kann das Enzym nicht gebildet werden und der Wirkstoff kann nicht bzw. nur sehr langsam metabolisiert werden. Intermediäre Metabolisierer sind entweder homozygot für das IM-Allel, welches für ein Enzym mit reduzierter Aktivität kodiert, oder heterozygot für ein defektes und ein Wildtyp-Allel. Aufgrund der reduzierten Enzymaktivität oder der geringeren Menge an normal-funktionsfähigem Enzym wird der Arzneistoff langsamer metabolisiert. Extensive Metabolisierer besitzen zwei Wildtyp-Allele und stellen den normalen Metabolisierungsstatus dar. Ultraschnelle Metabolisierer weisen im Falle von CYP2D6 Genduplikationen auf und können aufgrund der hohen Enzymexprimierung häufig selbst bei sehr hohen Dosen keine therapeutischen Wirkstoffkonzentrationen aufbauen [119, 120]. Bei CYP2C19 und CYP2B6 gibt es jeweils ein Allel (CYP2C19*17, CYP2B6*4), welches zu einer erhöhten Enzymaktivität führt und ohne Genduplikation dem Phänotyp eines ultraschnellen Metabolisierers entspricht [121, 122].

In Abb. 13 a sind die unterschiedlichen Häufigkeiten der vom Wildtyp abweichenden Allel-Varianten zwischen den verschiedenen ethnischen Gruppen und den CYP-Isoformen dargestellt. Abb. 13 b demonstriert die Varianten in der Enzymaktivität zwischen den ethnischen Gruppen. Hierfür wurden die Daten von knapp 57.000 Personen ausgewertet. CYP2D6 zeigt unter den betrachteten Isoenzymen die höchste Genvariabilität, die in der afrikanischen Bevölkerung am stärksten ausgeprägt ist. Nur weniger als 10 % der Afrikaner besitzen das Wildtyp-Gen. Zu beachten gilt, dass die recht häufig verbreitete Gen-Variante CYP2D6*2 annähernd normale Aktivität zeigt, weshalb knapp 40 % der Afrikaner dennoch normale CYP2D6-Aktivität zugeordnet wurde (siehe Abb. 13 b). Die geringste Genvielfalt liegt bei CYP3A4 vor. Schnelle Metabolisierer sind nur bei den Isoformen CYP2B6,

CYP2C19 und CYP2D6 anzutreffen [123]. Aber auch bei dem gering polymorph exprimierten CYP3A4 kann die Aktivität durch die schon erwähnten Hemm- und Induktionseffekte anderer Arzneistoffe um das 20-Fache variieren [124].

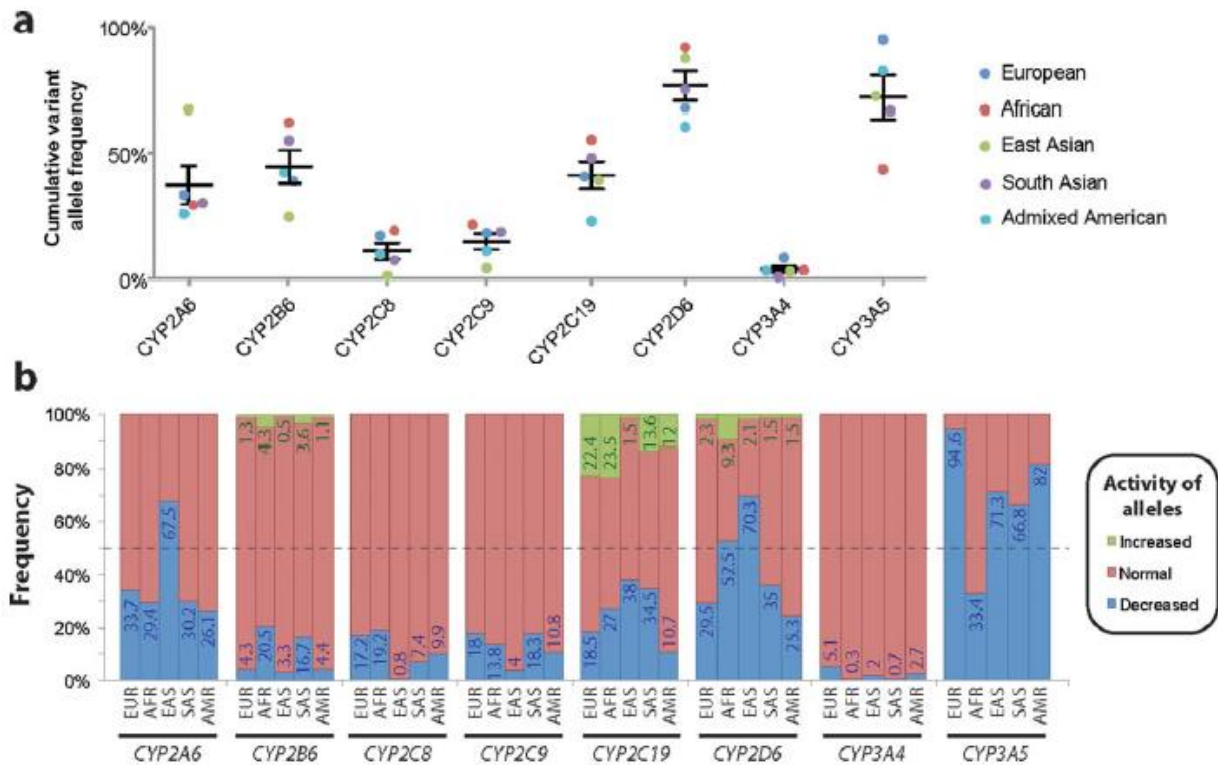


Abb. 13 Übersicht über die genetische Variabilität zwischen den verschiedenen CYP-Genen und ethnischen Gruppen

a Kumulative Häufigkeit der vom Wildtyp (Allel *1) abweichenden Allel-Varianten bei Europäern (blau), Afrikanern (rot), Ostasiaten (grün), Südasiaten (lila) und Amerikanern (türkis).

b Häufigkeit der erwarteten funktionellen Konsequenz aufgrund der Genvariation mit normaler (rot), erhöhter (grün) und erniedrigter (blau) Aktivität

Entnommen aus Zhou et al. (2017) [123]

1.4 Therapeutisches Drug Monitoring

Da nicht die verabreichte Arzneistoff-Dosis, sondern deren Konzentration im Blut die Wirksamkeit bestimmt, kann man sich Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) zunutze machen, um über Arzneistoffkonzentrationsbestimmungen im Blut die für den Patienten optimale Dosierung zu ermitteln. Das TDM ist somit ein hilfreiches Werkzeug, die Arzneistofftherapie zu individualisieren und über eine rechtzeitige Erkennung von unwirksamen Konzentrationen oder Überdosierungen eine sichere und effektive Therapie zu ermöglichen. Der Hauptgrund, warum zur Optimierung der Pharmakotherapie auf TDM zurückgegriffen wird, liegt in der hohen inter- und intraindividuellen Variabilität in der Pharmakokinetik. Hierfür können folgende Ursachen in Betracht gezogen werden:

- Pharmakokinetische Interaktionen mit anderen Arznei-, Genuss- oder Nahrungsmitteln
- Genpolymorphismen (als Ursache für einen schnellen oder langsamen Metabolisierungsstatus)
- Funktionsstörungen der Ausscheidungsorgane wie Leber und Niere aufgrund von Vorerkrankungen oder des Alters
- Ein noch nicht erreichtes pharmakokinetisches Gleichgewicht nach Neueinstellung des Patienten oder Dosisänderungen
- Fehlende, partielle oder übertriebene Compliance
- Verschiedene galenische Formulierungen des gleichen Wirkstoffs
- Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Resorption, Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung
- Variabilität in der Enzymexprimierung bei Frauen aufgrund zyklusbedingter Hormonschwankungen und Änderungen im Hormonhaushalt während einer Schwangerschaft oder in den Wechseljahren

[125–131]

Generell ist eine Therapieoptimierung durch TDM essentiell bei Arzneistoffen mit geringer therapeutischer Breite, bei Wirkstoffen ohne sofortigen sichtbaren klinischen Effekt, da es keinen Biomarker oder messbaren klinischen Effekt gibt, oder bei Wirkstoffen, die zu schwerwiegenden UAW führen können. Sinnvoll ist TDM auch zur Aufklärung von Complianceproblemen, zur Erkennung von Arzneimittelinteraktionen, besonders bei Patienten, die eine Polymedikation erhalten, bei Patienten mit Funktionsstörungen der Ausscheidungsorgane und bei älteren Personen. Auch bei Therapieumstellungen, bei Auftreten von UAW oder wenn trotz adäquater Arzneistoff-Dosierung ein Therapieerfolg ausbleibt, ist TDM ein unverzichtbarer Bestandteil in der Behandlung von Patienten [132].

In den meisten TDM-Laboren wird die bestimmte Wirkstoffkonzentration nur in den therapeutischen Referenzbereich (TRB) eingeordnet. Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte – wie es im TDM-Labor des Bezirksklinikums Regensburg üblich ist – eine Beurteilung der gemessenen Wirkstoffkonzentration nicht nur hinsichtlich des therapeutischen Referenzbereichs (TRB) sondern auch des dosisbezogenen Referenzbereichs (DRB) (siehe Kapitel 1.4.1 und 1.4.2). Eine weitere Besonderheit ist, dass niemals die Wirkstoffkonzentration als unkommentierter Messwert gemeinsam mit den Referenzbereichen an den anfordernden Arzt zurückgemeldet wird, sondern der Einsender neben der gemessenen Konzentration auch einen klinisch-pharmakologischen Befund erhält (siehe Kapitel 1.4.3). Dieser wird von Fachpersonal erstellt und enthält mögliche Gründe für Abweichungen der Konzentration vom DRB und TRB [127].

1.4.1 Therapeutischer Referenzbereich

In der Regel stellt beim TDM der TRB die Basis für die Bewertung der gemessenen Wirkstoffkonzentration dar. Die Serumkonzentration des Patienten sollte die untere Grenze des TRB überschreiten, damit vom Eintritt der erwünschten Wirkung des Medikamentes ausgegangen werden kann. Eine Überschreitung des oberen Werts sollte vermieden werden, um das Risiko von UAW zu minimieren und dadurch eine Gefährdung des Patienten zu verhindern [127]. Je weiter die Konzentrationen des Eintritts der erwünschten und der unerwünschten Wirkung auseinander liegen, desto größer ist die therapeutische Breite eines Wirkstoffs [133]. Zudem ist beim TDM eine „Warnschwelle“ („alert level“) definiert, eine Konzentration, die deutlich über der oberen Grenze des TRB liegt. Wird diese überschritten, muss das Labor den behandelnden Arzt umgehend informieren. Die „Warnschwelle“ basiert auf Berichten über Patienten, bei denen aufgrund der hohen Wirkstoffkonzentrationen Intoxikationen festgestellt wurden. Bei fehlenden Daten wird als „Warnschwelle“ der doppelte Wert der oberen Grenze des TRB gewählt [134].

Für die Ermittlung des TRB bieten Phase-III-Studien die optimale Voraussetzung. Hier erfolgt die Testung der Wirksamkeit bei einer großen Studienpopulation von bis zu mehreren tausend Patienten. Bei Studienpopulationen treten neben Responder auch Non-Responder und Placebo-Responder auf. Non-Responder sprechen auf keine Konzentration an und bei Placebo-Respondern tritt unabhängig von der Konzentration eine Besserung ein. Beide Gruppen zeigen somit keine Korrelation der Wirkung mit der Wirkstoffkonzentration und müssen bei der Auswertung ausgeschlossen werden [133, 135]. Problematisch ist, dass in Phase-III-Studien häufig keine Wirkstoffkonzentrationen gemessen werden, sondern nur eine Dosis-Wirkungs-Beziehung anstelle der Konzentration-Wirkungs-Beziehung ermittelt wird. Da bisher die Bestimmung des TRB in Phase-III-Zulassungsstudien nicht vorgesehen ist,

muss auf andere Methoden zur Ermittlung des TRB zurückgegriffen werden. Hierfür stehen folgende Möglichkeiten zu Verfügung: Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen unter zugelassenen Dosierungen, Extrapolation aus der Rezeptorbesetzung, Fixed-dose-Studien, prospektive Studien mit Einstellung auf Serumkonzentrationen oder retrospektive Datenbankauswertungen [133].

1.4.2 Dosisbezogener Referenzbereich

Während mithilfe des TRB überprüft werden kann, ob wirksame Konzentrationen erreicht wurden oder ob durch Überschreiten des TRB der Patient einem erhöhten UAW-Risiko ausgesetzt ist, kann über den vom TDM-Labor des Bezirksklinikums Regensburg entwickelten DRB auf die individuelle Pharmakokinetik eingegangen werden und erlaubt Rückschlüsse auf Compliance, Metabolisierungsstatus oder Arzneimittelinteraktionen. Der DRB ist der Bereich, in dem eine Wirkstoffkonzentration im Blut in Abhängigkeit von der Dosis zu erwarten ist. Die Berechnung des DRB basiert auf der Proportionalität von Dosis und Wirkstoffkonzentration im Blut. Des Weiteren ist der DRB abhängig von pharmakokinetischen Größen wie totale Clearance und Bioverfügbarkeit (siehe Formel 1). Durch Einsetzen der totalen Clearance als Mittelwert \pm Standardabweichung werden die obere und untere Grenze des DRB definiert. Der DRB ist der Konzentrationsbereich, in dem sich 68 % der Wirkstoffkonzentrationen solcher Patienten finden, die dem „Normpatienten“ entsprechen. Unter „Normpatienten“ versteht man die Probandenpopulation, bei welcher im Rahmen der Phase-II-Zulassungsstudien, ersatzweise auch der Phase-I-Zulassungsstudien, die der Berechnung zugrundeliegenden pharmakokinetischen Daten (totale Clearance und Bioverfügbarkeit) erhoben wurden. Bei der Probandenpopulation handelt es sich um Patienten, die neben dem Studienpräparat keine weiteren Medikamente einnehmen, keine Lebensmittel oder Genussmittel konsumieren, die den Arzneimittelabbau beeinflussen, kaukasischer Herkunft sind, der Altersgruppe zwischen 18 und 65 Jahren angehören und bei denen keine Erkrankungen der Stoffwechselorgane vorliegen. Bestenfalls sollen in den Studien beide Geschlechter in gleichem Ausmaß vertreten sein und die Probanden ein Normgewicht von 75 kg aufweisen [125–127, 133].

Formel 1 Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs C_{av}

$$C_{av} = \frac{D \times f \times F}{\tau \times Cl}$$

C_{av}	mittlere Tageskonzentration (ng/ml)
D	Erhaltungsdosis (ng)
f	Umrechnungsfaktor zur Berechnung der Dosis der freien Base
F	Bioverfügbarkeit
τ	Dosisintervall (h)
Cl	totale Clearance (ml/h)

Formel 1 beschreibt die Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs über die mittlere Tageskonzentration C_{av} im pharmakokinetischen Gleichgewicht (average steady-state concentration). Das Update 2017 der Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring enthält eine weitere Möglichkeit der Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs [136]. Unter Verwendung der Bateman-Funktion wird unter Berücksichtigung der Halbwertszeit und des Zeitintervalls zwischen Blutentnahme und letzter Tabletteneinnahme der dosisbezogene Referenzbereich über die Minimal- oder Talkonzentration C_{min} (minimum steady-state concentration) ermittelt (siehe Formel 2). Gex-Fabry et al. (2003) verwendeten diese Formel bereits für die Berechnung von Konzentrationen in der postabsorptiven Phase [49, 136, 137].

Durch die Berücksichtigung des Zeitintervalls zwischen Blutentnahme und letzter Tabletteneinnahme ist die Berechnung nicht nur von der Talkonzentration, sondern der Konzentration zu jedem beliebigen Zeitpunkt möglich. Da üblicherweise die Blutabnahme vor der nächsten Tabletteneinnahme erfolgt, also zum Talspiegel, wird bei der Verwendung der Formel 2 zur Vereinfachung von C_{min} gesprochen.

Formel 2 Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs C_{min}

$$C_{min} = \frac{D \times f \times F}{\tau \times Cl} \times \frac{ke \times \tau}{1 - e^{-ke \times \tau}} \times e^{-ke \times \Delta t}$$

C_{min}	Minimal- oder Talkonzentration (ng/ml)
D	Erhaltungsdosis (ng)
f	Umrechnungsfaktor zur Berechnung der Dosis der freien Base
F	Bioverfügbarkeit
τ	Dosisintervall (h)
Cl	totale Clearance (ml/h)
ke	Eliminationskonstante: $\ln 2 / HWZ$ (1/h)
Δt	Zeitintervall zwischen Blutentnahme und letzter Tabletteneinnahme

1.4.3 Der klinisch-pharmakologische Befund

Für eine klinisch-pharmakologische Befundung ist eine gute Informationslage über den Patienten nötig. Hierfür hat das TDM-Labor von Professor Hiemke in Mainz einen Anforderungsbogen für Konzentrationsbestimmungen entwickelt, der von der Arbeitsgruppe von Professor Haen in Regensburg optimiert wurde. Mithilfe des Anforderungsbogens werden alle wichtigen Informationen wie Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, Rauchverhalten, Kaffee- oder Alkoholkonsum, Medikation mit Dosierung und Verlauf der Erkrankung erfragt (siehe Kapitel 7.2, Abb. 49). Mithilfe dieser Daten und der in Regensburg entwickelten webbasierten Plattform KONBEST® erfolgte die klinisch-pharmakologische Befundung. Bei KONBEST® handelt es sich um ein Web-basiertes Labor-Informations-Management-System (LIMS), das speziell für TDM-Laboratorien entwickelt wurde [126, 138]. Mithilfe dieses Programms erfolgt über eine 9-Felder-Tafel die grafische Einordnung der Wirkstoffkonzentration in Bezug auf den DRB und den TRB (siehe Tab. 7). Dadurch wird ermöglicht, mit einem Blick Abweichungen der Konzentration von DRB und TRB zu erkennen. Des Weiteren wird eine Stoffwechselwegetabelle der gesamten Medikation und der konsumierten Genussmitteln angegeben, aus der ersichtlich wird, welche gemeinsamen Stoffwechselwege vorliegen und welche Abbauewege gehemmt oder induziert werden. Aus den vorsortierten Daten wird von entsprechend ausgebildetem Fachpersonal der TDM-Befund erstellt und mit der Angabe von möglichen Gründen für Abweichungen von den Referenzbereichen und einer Dosisempfehlung ergänzt und persönlich abgezeichnet [127].

Tab. 7 Darstellung der neun verschiedenen Beziehungen von therapeutischen (Spalten) zu dosisbezogenem Referenzbereich (Zeilen) in der Neun-Felder-Tafel

Die Inhalte der Felder geben mögliche Interpretationen aufgrund der Einordnung der Konzentration in den dosisbezogenen (blau) und in den therapeutischen Referenzbereich (rot) wieder. Empfohlene Dosisanpassungen sind in schwarzer Schrift.

Modifiziert nach Greiner und Haen (2007) und Haen (2012) [127, 139]

		Therapeutischer Referenzbereich		
		Zu niedrig	Passend	Zu hoch
Dosisbezogener Referenzbereich	Zu niedrig	<ul style="list-style-type: none"> - Enzyminduktion (CYP, UGT) - Schneller Metabolisierer - Pharmakokinetisches Gleichgewicht noch nicht erreicht nach Dosissteigerung - Complianceprobleme <p>- Evtl. fehlende Wirksamkeit → Dosissteigerung je nach klinischem Bild sinnvoll (in großen Schritten möglich)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Enzyminduktion (CYP, UGT) - Schneller Metabolisierer - Pharmakokinetisches Gleichgewicht noch nicht erreicht nach Dosissteigerung - Complianceprobleme <p>- Dosis zum therapeutischen Bereich passend → Dosisanpassungen innerhalb des TRB möglich</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Enzyminduktion (CYP, UGT) - Schneller Metabolisierer - Pharmakokinetische Gleichgewicht noch nicht erreicht nach Dosissteigerung - Complianceprobleme <p>- Risiko unerwünschter Arzneimittelwirkungen (UAW) → Dosisreduktion je nach klinischem Bild</p>
	Passend	<ul style="list-style-type: none"> - Keine pharmakokinetische Arzneimittelinteraktion - Ausgeglichene Hemm- und Induktionseffekte - Pharmakokinetisches Gleichgewicht eingestellt - Gesicherte Compliance <p>- Evtl. fehlende Wirksamkeit → Dosissteigerung je nach klinischem Bild sinnvoll</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Keine pharmakokinetische Arzneimittelinteraktion - Ausgeglichene Hemm- und Induktionseffekte - Pharmakokinetisches Gleichgewicht eingestellt - Gesicherte Compliance <p>- Dosis zum therapeutischen Bereich passend → Dosisanpassungen innerhalb des TRB möglich</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Keine pharmakokinetische Arzneimittelinteraktion - Ausgeglichene Hemm- und Induktionseffekte - Pharmakokinetisches Gleichgewicht eingestellt - Gesicherte Compliance <p>- Risiko unerwünschter Arzneimittelwirkungen (UAW) → Dosisreduktion je nach klinischem Bild</p>
	Zu hoch	<ul style="list-style-type: none"> - Enzymhemmung (CYP, UGT) - Langsamer Metabolisierer - Pharmakokinetisches Gleichgewicht noch nicht erreicht nach Dosisreduktion - Übertriebene Compliance - Nieren- oder Leberfunktionsstörung - Blutabnahme zur falschen Zeit <p>- Evtl. fehlende Wirksamkeit → Dosissteigerung je nach klinischem Bild sinnvoll (nur in kleinen Schritten)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Enzymhemmung (CYP, UGT) - Langsamer Metabolisierer - Pharmakokinetisches Gleichgewicht noch nicht erreicht nach Dosisreduktion - Übertriebene Compliance - Nieren- oder Leberfunktionsstörung - Blutabnahme zur falschen Zeit <p>- Dosis zum therapeutischen Bereich passend → Dosisanpassungen innerhalb des TRB möglich</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Enzymhemmung (CYP, UGT) - Langsamer Metabolisierer - Pharmakokinetisches Gleichgewicht noch nicht erreicht nach Dosisreduktion - Übertriebene Compliance - Nieren- oder Leberfunktionsstörung - Blutabnahme zur falschen Zeit <p>- Risiko unerwünschter Arzneimittelwirkungen (UAW) → Dosisreduktion je nach klinischem Bild</p>

2. Fragestellung der Arbeit

Zur Verbesserung der Therapiesicherheit der drei Antipsychotika OLA, CLO und QUE und der β -AR-Antagonisten MET, BIS, PRO, TIM, CAR, NEB und ATE ergab sich folgende Zielsetzung und Fragestellung:

Ziel ist eine HPLC/UV-Methode zu entwickeln, die als Messmethode für TDM und enzymkinetische Versuche genutzt werden kann:

1. Ist die Entwicklung einer HPLC/UV-Messmethode zur simultanen Bestimmung der drei Antipsychotika OLA, CLO und QUE, der sechs β -AR-Antagonisten MET, BIS, PRO, TIM, CAR und NEB und der Metaboliten DMOLA, DMCLO, DAQUE, α -HMET, DIPRO und 4-HCAR möglich?
2. Erfüllt die Methode die Anforderungen der Validierung?
3. Können alternative Messmethoden entwickelt werden:
 - a. Für den Fall von auftretenden Interferenzen?
 - b. Für die Bestimmung von Atenolol?
 - c. Als Möglichkeit, die Analysenzeit zu verkürzen, wenn nicht alle Analyten gleichzeitig bestimmt werden müssen?

Mithilfe von Experimenten an humanen Leberzellmikrosomen und rekombinanten CYP-Isoformen soll die Biotransformation *in vitro* nachgestellt werden und eine bessere Einschätzung von pharmakokinetischen Interaktionen zwischen den beiden Wirkstoffklassen ermöglichen.

4. In welchem Ausmaß erfolgt der Abbau von CLO, OLA, QUE, MET, PRO, CAR und NEB über die bei KONBEST® angegebenen CYP-Isoenzyme?
5. Wie ist der Einfluss der β -AR-Antagonisten BIS, MET, PRO, CAR und NEB auf den Metabolismus der Antipsychotika OLA, CLO und QUE?
 - a. Wird der Abbau der Antipsychotika durch die β -AR-Antagonisten unter Verwendung humaner Leberzellmikrosomen beeinflusst?
 - b. Wird der Metabolismus der Antipsychotika durch die β -AR-Antagonisten unter Verwendung von rekombinanten CYP2D6-Isoenzymen gehemmt?
 - c. Welche CYP-Isoformen werden durch CAR gehemmt?
 - d. Inhibiert CAR die Antipsychotika CLO und QUE auch in therapeutischen Konzentrationen unter Verwendung humaner Leberzellmikrosomen?

6. Wie ist der Einfluss der Antipsychotika auf den Metabolismus der β -AR-Antagonisten MET, BIS, PRO, CAR und NEB?
 - a. Wird die Biotransformation der β -AR-Antagonisten unter Verwendung humaner Leberzellmikrosomen durch die Antipsychotika beeinflusst?
 - b. Hemmt OLA den Abbau von PRO und CAR über rekombinantes CYP1A2?
 - c. Wird der Metabolismus von MET, PRO, CAR und NEB durch CLO und QUE unter Verwendung von rekombinanten CYP2D6 inhibiert?

Über eine KONBEST®-Auswertung soll untersucht werden, wie häufig bei Patienten die Kombination eines Antipsychotikums mit einem β -AR-Antagonisten auftritt.

7. Wie viele Patienten, die OLA, CLO und QUE bekommen, erhalten in der Begleitmedikation β -AR-Antagonisten?
8. Welche sind die am häufigsten eingesetzten β -AR-Antagonisten?
9. Gibt es Unterschiede zwischen den Ergebnissen der KONBEST®-Auswertung und des Arzneimittelverordnungs-Reports 2010?

Unter Verwendung der entwickelten HPLC/UV-Messmethode soll Therapeutisches Drug Monitoring für β -AR-Antagonisten durchgeführt werden.

10. Ist mit der entwickelten Messmethode Therapeutisches Drug Monitoring für β -AR-Antagonisten möglich?
11. Welche der beiden Berechnungsarten des dosisbezogenen Referenzbereichs (über die mittlere Tageskonzentration C_{av} oder die Talkonzentration C_{min}) erscheint geeigneter?
12. Bei welchem Zeitintervall zwischen Blutabnahme und letzter Tabletteneinnahme führt sowohl die Berechnung über die mittlere Tageskonzentration als auch über die Talkonzentration zu einem vergleichbaren dosisbezogenen Referenzbereich?
13. Warum ist TDM für β -AR-Antagonisten sinnvoll?

3. Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Geräte

Bis auf die Bestimmung einiger Patientenproben wurden alle Messungen auf einer HPLC-Anlage der Firma „Thermo Fisher Scientific GmbH“ (Germering) durchgeführt, bestehend aus einem Autosampler (Ultimate 3000), einer Niederdruckgradientenpumpe (P680), einem programmierbaren Säulenofen (TCC100) und einem UV-Detektor (UVD 170U). Die Patientenproben wurden größtenteils auf einer weiteren HPLC-Anlage von Thermo Fisher bestimmt. Autosampler, Pumpe, Säulenofen und DAD-Detektor waren alle vom Typ Ultimate 3000 (Dionex).

Als Chromatographiesoftware wurde Chromeleon® Version 6.80 verwendet.

Die außerdem verwendeten Geräte sind in Tab. 8 dargestellt.

Tab. 8 Übersicht der zusätzlich verwendeten Geräte

Gerät	Hersteller	Typ
Reinstwassersystem	Sartorius Stedim Biotech (Göttingen)	Arium® Basic
pH-Messgerät	SI Analytics (Mainz)	Lab 850
Magnetrührer	IKA Labortechnik (Staufen)	Ikamag® Reo
Zentrifuge	Heraeus Instruments (Hanau)	Megafuge 2.0R
Mikroliterzentrifuge	Heraeus Instruments (Hanau)	Biofuge pico
temperierbare Mikroliterzentrifuge	Heraeus Instruments (Hanau)	Biofuge fresco
Thermorüttler	Eppendorf (Hamburg)	Thermomixer comfort
Reagenzglasschüttler	Heidolph Instruments (Schwabach)	Reax top®
Analysenwaage	Sartorius (Göttingen)	BP211D
Feinwaage	Sartorius (Göttingen)	1712

Ultraschallbad	Bandelin (Berlin)	Sonorex® Super RK106
Eppendorf-Pipetten	Eppendorf (Hamburg)	Reference®
Gilson-Pipetten	Gilson (Limburg)	Pipetman®
Flaschenaufsatzdispenser	Brand (Wertheim)	Dispensette®

3.1.2 Säulenauswahl

Die im Rahmen der Methodenentwicklung eingesetzten Vorsäulen, Analysensäulen und Aufreinigungssäulen sind in Tab. 9, Tab. 10 und Tab. 11 angegeben.

Tab. 9 Überblick über die verwendeten Vorreinigungssäulen

Material	Hersteller	Partikelgröße (µm)	Länge x Innendurchmesser (mm)
LiChrospher® RP-4 ADS	Merck (Darmstadt)	25	25 x 4,0
PerfectBond® C8	MZ (Mainz)	20	20 x 3,0

Tab. 10 Überblick über die verwendeten Vorsäulen

Material	Hersteller	Partikelgröße (µm)	Länge x Innendurchmesser (mm)
Gemini® Phenyl Hexyl	Phenomenex (Aschaffenburg)	3	4 x 3,0
AQ C18	Phenomenex (Aschaffenburg)	3	4 x 3,0

Tab. 11 Überblick über die verwendeten Analysensäulen

Material	Hersteller	Partikelgröße (µm)	Länge x Innendurchmesser (mm)
Luna® Phenyl-Hexyl	Phenomenex (Aschaffenburg)	3	150 x 3,0
PerfectSil® ODS-L 120	MZ (Mainz)	5	250 x 4,6
Hyperclone™ ODS 120	Phenomenex (Aschaffenburg)	5	250 x 4,6

Luna® PFP (2) 100A	Phenomenex (Aschaffenburg)	5	250 x 4,6
Gemini® Phenyl Hexyl 110A	Phenomenex (Aschaffenburg)	5	250 x 4,6
Synergi™ Hydro-RP 80 A	Phenomenex (Aschaffenburg)	4	250 x 4,6

3.1.3 Chemikalien und Reinsubstanzen

Die verwendeten Lösungsmittel in HPLC-Qualität und weitere Chemikalien sind in Tab. 12 aufgeführt.

Tab. 12 Überblick über die verwendeten Chemikalien

Reagenz	Hersteller
Acetonitril (LiChrosolv®)	Merck (Darmstadt)
Di-Kaliumhydrogenphosphat- Trihydrat	Merck (Darmstadt)
Dimethylsulfoxid	Merck (Darmstadt)
Ethanol (LiChrosolv®)	Merck (Darmstadt)
Gepoolte humane Leberzellmikrosomen (HLM)	Corning (Woburn, MA, USA)
Kaliumdihydrogenphosphat	Carl Roth (Karlsruhe)
Methanol (LiChrosolv®)	Merck (Darmstadt)
NADPH-Regenerating System Lösung A und B	Corning (Woburn, MA, USA)
Orthophosphorsäure 85 %	Merck (Darmstadt)
CYP Corning-Supersomes™ (CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4)	Corning (Woburn, MA, USA)

Die über die Firma Corning bezogenen humanen Leberzellmikrosomen stammten von verstorbenen Personen. Informationen zu den Personen über Geschlecht, Alter, Ethnie, Todesursache, Krankheiten, Medikation und Konsum von Genuss- und Rauschmitteln wurden angegeben. Die humanen Leberzellmikrosomen enthielten die CYP-Isoformen in physiologischer Zusammensetzung. Bei den CYP Corning-Supersomes® handelte es sich

um rekombinant hergestellte CYP-Isoenzyme. Diese wurden von Baculovirus-transfizierten Insektenzellen exprimiert. Die NADPH-Regenerating-System-Lösung A setzte sich aus 26 mM NADPH⁺, 66 mM Glucose-6-phosphat und 66 mM MgCl₂ in Wasser zusammen. Die Lösung B bestand aus 40 U/ml Glucose-6-phosphat Dehydrogenase in 5 mM Natriumcitrat.

Tab. 13 zeigt einen Überblick über alle verwendeten Arzneistoffe

Tab. 13 Überblick über die verwendeten Arzneistoffe

Reagenz	Hersteller
1,1-Dimethylbiguanid HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
4'-Hydroxycarvedilol	Clearsynth (Mumbai, IND)
Acetylcystein	Hexal (Holzkirchen)
Acetylsalicylsäure	Sigma-Aldrich (Steinheim)
α-Hydroxymetoprolol	Clearsynth (Mumbai, IND)
Agomelatin	Servier (Suresnes cedex, FRA)
Alprazolam	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Amantadin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Amisulprid	Sanofi Aventis (Frankfurt a. M.)
Amitriptylin HCL	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Amitriptylinoxid	Sanofi Aventis (Frankfurt a. M.)
Amlodipin	Pfizer (Freiburg)
Aripiprazol	Bristol Myers Squibb (Princeton, USA)
Ascorbinsäure	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Atenolol	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Biperidon HCl	Abott (Wiesbaden)
Bisoprololhemifumarat	Merck (Darmstadt)
Bromazepam	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Bupropion HCL	Glaxo Smith Kline (Durham, UK)
Buspiron HCL	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Carbamazepin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Carvedilol	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Chlordiazepoxid HCL	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Chlorprothixen HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Cisaprid Monohydrat	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Citalopram HBr	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Clobazam	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Clomipramin HCL	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Clozapin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Clozapin-N-oxid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Dehydroaripiprazol	Otsuka (Frankfurt am Main)
Desipramin HCL	Sigma-Aldrich (Steinheim)

Diazepam	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Diclofenac Natrium	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Dihydrocodeinhydrogentartrat	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Doxepin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Duloxetin HCl	Lilly (Indianapolis, USA)
Enalaprilmaleat	LKT-Laboratories (St. Paul, USA)
Escitalopramoxalat	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Estradiol	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Flupentixol HCl	Bayer HealthCare AG (Leverkusen)
Fluperlapin	Biotrend (Köln)
Fluoxetin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Fluphenazindecanoat	Altana Pharma (Wesel)
Fluspirilen	Janssen-Cilag (Neuss)
Fluvoxaminmaleat	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Furosemid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Gabapentin HBr	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Galantamin	Janssen-Cilag (Neuss)
Glimepirid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Haloperidol	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Hydrochlorothiazid	LKT-Laboratories (St. Paul, USA)
Imipramin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Koffein	Caelo (Hilden)
Lactulose	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Lamotrigin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Levodopa	LKT-Laboratories (St. Paul, USA)
Levomepromazin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Levothyroxin	Hexal (Holzkirchen)
Lorazepam	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Maprotilin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Melperon	Nordmark (Uetersen)
Memantin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Methylrisperidon	Janssen-Cilag (Neuss)
Metoprololtartrat	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Mianserin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Mirtazapin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Nateglinid	Novartis (Basel, CH)
N-Desalkylquetiapin	Astra Zeneca (Wedel)
N-Desisopropylpropranolol	Clearsynth (Mumbai, IND)
N-Desmethylclozapin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
N-Desmethylolanzapin	Chem Lab (Zedelgem, BEL)
Nebivolol HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Nitrazepam	Sigma-Aldrich (Steinheim)

Norclomipramin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Nordiazepam	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Nordoxepin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Nortriptylin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
O-Desmethylvenlafaxin	Wyeth (Dallas, USA)
Olanzapin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Omeprazol	LKT-Laboratories (St. Paul, USA)
Oxazepam	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Oxcarbazepin	Novartis (Basel, CH)
Paliperidon	Janssen-Cilag (Neuss)
Pantoprazol	Altana Pharma (Wesel)
Paroxetin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Perazinbishydrogenmalonat	Altana Pharma (Wesel)
Phenytoin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Pipamperon	Janssen-Cilag (Neuss)
Pirenzepin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Pregabalin	Pfizer (Freiburg)
Primidon	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Promethazin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Propranolol HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Quetiapinfumarat	Astra Zeneca (Wedel)
Ramipril	LKT-Laboratories (St. Paul, USA)
Reboxetin	Pfizer (Freiburg)
Risperidon	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Rivastigminhydrogentartrat	Novartis (Basel, CH)
Sertralin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Sultiam	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Sumatriptan	GSK (Durham, UK)
Testosteron	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Theobromin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Theophyllin	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Timololmaleat	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Topiramat	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Triamcinolonacetonid	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Triamteren	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Triazolam	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Trimipraminmaleat	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Venlafaxin HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Ziprasidon	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Zolpidem	Abz-Pharma (Ulm)
Zopiclon	Sigma-Aldrich (Steinheim)
Zuclopenthixol HCl	Sigma-Aldrich (Steinheim)

3.1.4 Verwendung von humanem Serum

Zur Herstellung von Standards, Kontrollen und Simulationsproben wurde humanes Poolserum von Angestellten der Universität und des Bezirksklinikums Regensburg bezogen. Das Serum wurde sofort aufgereinigt und bis zur Aufarbeitung bei -20 °C gelagert. Die SPE-Aufreinigung erfolgte mit Oasis® Sep-Pak-Vac Kartuschen. Nach Konditionierung mit 5 ml Methanol und 5 ml Reinstwasser konnte pro Kartusche ca. 10 ml Serum aufgereinigt werden.

3.1.5 Verwendete Software

Zur Auswertung der HPLC-Messungen wurde Chromeleon® Version 6.80 (Thermo Fisher Scientific, Germering) eingesetzt. Als Betriebssystem wurden Windows® XP und Windows® 7 (Microsoft, Unterschleißheim) verwendet. Zur Text- und Graphikverarbeitung kamen Microsoft Office 2010 und 2016 (ebenfalls Microsoft) und Sigmaplot® (Systat Software GmbH, Erkrath) zum Einsatz.

3.2 Methoden

3.2.1 HPLC-Methode

3.2.1.1 Herstellung der Stammlösungen, Kontrollen und Standards

Die Stammlösungen der Analyten wurden in einer Konzentration von 100 µg freie Base/ml hergestellt. Hierfür wurden die Reinsubstanzen in einem Ethanol-Wasser-Gemisch gelöst (80:20, V/V). Die Lagerung der Stammlösungen erfolgte bei -20 °C. Zur Peakfindung wurde vorerst nur aus Puffer gemessen und Konzentrationen von 250 ng/ml und 500 ng/ml eingesetzt. Für die Herstellung von Simulationsproben, Kalibratoren und Qualitätskontrollen für die Validierung und Standards zur Bestimmung von Patientenproben wurde Poolserum mit definierten Konzentrationen versetzt, die den therapeutischen Bereich des jeweiligen Analyten abdecken. Die Proben wurden entweder sofort gemessen oder bei -20 °C gelagert. Der therapeutische Referenzbereich der jeweiligen Substanzen und die ausgewählten Konzentrationen für die Kalibratoren sind in Tab. 14 aufgeführt.

Tab. 14 Therapeutischer Referenzbereich und Konzentrationen der Kalibratoren (jeweils in ng/ml)

Analyt	Therapeutischer Bereich (ng/ml)	K6	K5	K4	K3	K2	K1	LOQ
α -HMET*	35 - 500	600	300	150	75	37,5	18,75	5
DMOLA*	20 - 80	320	160	80	40	20	10	2,5
OLA	20 - 80	320	160	80	40	20	10	2,5
TIM	10 - 40	200	100	50	25	12,5	6,25	5
MET	35 - 500	600	300	150	75	37,5	18,75	5
DIPRO*	20 - 300	400	200	100	50	25	12,5	1,25
BIS	10 - 100	200	100	50	25	12,5	6,25	5
DMCLO*	350 - 600	3200	1600	800	400	200	100	5
PRO	20 - 300	400	200	100	50	25	12,5	1,25
CLO	350 - 600	3200	1600	800	400	200	100	5
DAQUE*	100 - 500	2000	1000	500	250	125	62,5	5
4-HCAR*	5 - 10	80	40	20	10	5	2,5	2,5
QUE	100 - 500	2000	1000	500	250	125	62,5	5
CAR	5 - 10	80	40	20	10	5	2,5	2,5
NEB	88 - 195	1600	800	400	200	100	50	40

* Für die Metaboliten wurde der therapeutische Bereich entsprechend der Muttersubstanz gewählt.
[136, 140–142]

Tab. 15 Pipettierschema für die Herstellung der Kalibratoren

	μ l (für 4 ml K6)	K5	K4	K3	K2	K1	μ l (für 2 ml LOQ)
Leerserum	3392	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	1815
	<i>Stammlösung 100 μg/ml</i>						<i>Stammlösung 1 μg/ml</i>
α -HMET	24	+ 2 ml K6	+ 2 ml K5	+ 2 ml K4	+ 2 ml K3	+ 2 ml K2	10
DMOLA	12,8						5
OLA	12,8						5
TIM	8						10
MET	24						10
DIPRO	16						2,5
BIS	8						10
DMCLO	128						10
PRO	16						2,5
CLO	128						10
DAQUE	80						10
4-HCAR	3,2						5
QUE	80						10
CAR	3,2						5
NEB	64	80					

Die Konzentrationen von K1, K3 und K5 wurden auch für Qualitätskontrollen (QC-Proben) und für die Standards „low“ (L), „middle“ (M) und „high“ (H) zur Bestimmung von Patientenproben verwendet. Die Kontrolle der Standards „control“ (C) orientierte sich an der Konzentration von K4. Tab. 16 zeigt die Konzentrationen der verschiedenen Standards und der Kontrolle jeweils mit den erlaubten Grenzen, wie weit die gemessene Konzentration vom Sollwert abweichen darf.

Tab. 16 Konzentrationen (ng/ml) der Qualitätskontrollen und der Standards mit erlaubten Grenzen ($\pm 15\%$)

Analyt	QC5/H		QC3/M		QC1/L		C	
	Sollwert	erlaubte Grenzen	Sollwert	erlaubte Grenzen	Sollwert	erlaubte Grenzen	Sollwert	erlaubte Grenzen
α-HMET	300	255 - 345	75	64 - 86	18,75	16 - 22	150	128 - 173
DMOLA	160	136 - 184	40	34 - 46	10	9 - 12	80	68 - 92
OLA	160	136 - 184	40	34 - 46	10	9 - 12	80	68 - 92
TIM	100	85 - 115	25	21 - 29	6,25	5 - 7	50	43 - 58
MET	300	255 - 345	75	64 - 86	18,75	16 - 22	150	128 - 173
DIPRO	200	170 - 230	50	43 - 58	12,5	11 - 14	100	85 - 115
BIS	100	85 - 115	25	21 - 29	6,25	5 - 7	50	43 - 58
DMCLO	1600	1360 - 1840	400	340 - 460	100	85 - 115	800	680 - 920
PRO	200	170 - 230	50	43 - 58	12,5	11 - 14	100	85 - 115
CLO	1600	1360 - 1840	400	340 - 460	100	85 - 115	800	680 - 920
DAQUE	1000	850 - 1150	250	213 - 288	62,5	53 - 72	500	425 - 575
4-HCAR	40	34 - 46	10	9 - 12	2,5	2 - 3	20	17 - 23
QUE	1000	850 - 1150	250	213 - 288	62,5	53 - 72	500	425 - 575
CAR	40	34 - 46	10	9 - 12	2,5	2 - 3	20	17 - 23
NEB	800	680 - 920	200	170 - 230	50	43 - 58	400	340 - 460

Tab. 17 Pipettierschema für die Herstellung der Qualitätskontrollen bzw. Standards zur Bestimmung von Patientenproben

	µl (für 5 ml QC5/H)	QC3/M	QC1/L	µl (für 5 ml C)
Leerserum	4620	3,75 ml	3,75 ml	4810
	<i>Stammlösung 100 µg/ml</i>			<i>Stammlösung 1 µg/ml</i>
α-HMET	15	+ 1,25 ml QC5/H	+ 1,25 ml QC3/M	7,5
DMOLA	8			4
OLA	8			4
TIM	5			2,5
MET	15			7,5
DIPRO	10			5
BIS	5			2,5
DMCLO	80			40
PRO	10			5
CLO	80			40
DAQUE	50			25
4-HCAR	2			1
QUE	50			25
CAR	2			1
NEB	40			20

3.2.1.2 Validierung

Für die Entwicklung einer analytischen Methode ist die Validierung Grundvoraussetzung zur Gewährleistung der Zuverlässigkeit, Qualität und Vergleichbarkeit von Messergebnissen. Die Validierung der entwickelten HPLC-Methode erfolgte nach den im folgenden Teil zitierten Richtlinien der GFTCh (Gesellschaft für Toxikologie und Forensische Chemie) unter Berücksichtigung der analytischen Grenzwerte gemäß DIN 32645 (Deutsches Institut für Normung). Desweiteren wurden Vorgaben der FDA (United States Food and Drug Administration) und ICH (International Conference of Harmonization) berücksichtigt [143–146].

A Analytische Grenzen

A1. Nachweisgrenze (Limit of Detection, LOD)

Für die Bestimmung der Nachweisgrenze erfolgte die Analyse einer Probe mit einer Analytkonzentration von 20 ng/ml. Zu den Retentionszeiten der Analyten wurde bei einer Leerprobe die Peakhöhe der Rauschpeaks bestimmt. Die Berechnung der Konzentration des Rauschens erfolgte mithilfe des Dreisatzes über die Höhe des Rauschens und der Höhe des Peaks der jeweiligen Analyten mit bekannter Konzentration. Die Nachweisgrenze der jeweiligen Analyten ergibt sich aus dem dreifachen Wert der ermittelten Konzentration des Rauschens (Peak-Rausch-Verhältnis von 3:1) [147].

A2. Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification, LOQ)

Zur Ermittlung der Bestimmungsgrenze wurden verschiedene Konzentrationsstufen mit Poolserum hergestellt und fünfmal gemessen. Als Bestimmungsgrenze wurde jene Konzentration festgelegt, bei der Präzision (ausgedrückt über den Variationskoeffizienten CV) und Bias innerhalb $\pm 20\%$ lagen [145].

B Linearität

Die Linearität einer analytischen Methode bezeichnet einen bestimmten Bereich, in dem das Messsignal direkt proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe ist [148]. Er sollte so gewählt werden, dass der gesamte therapeutische Konzentrationsbereich abgedeckt wird [149].

Zur Bestimmung der Linearität wurden sechs Kalibratoren (K1 – K6) durch Aufstocken von Leerserum hergestellt, die den therapeutischen Bereich des jeweiligen Wirkstoffs abdecken. Zusätzlich wurde die Bestimmungsgrenze (LOQ) als niedrigster Kalibrator verwendet (siehe Tab. 14). Die einzelnen Kalibratoren wurden sechsfach bestimmt, die mittlere Peakhöhe gegen die Sollkonzentration aufgetragen. Durch lineare Regression wurde eine Geradengleichung gebildet und das Bestimmtheitsmaß r^2 ermittelt. Gemäß DIN 32465 gilt ein Bestimmtheitsmaß von $r^2 \geq 0,98$ als akzeptabel [144].

C Richtigkeit

Die Richtigkeit beschreibt die Abweichung der über die Kalibrierkurve bestimmten Konzentrationen vom Sollwert. Das Ausmaß an Richtigkeit wird gewöhnlich über den systematischen Fehler (Bias) ausgedrückt. Für die Ermittlung des Bias wurden, gemäß den

Vorgaben der FDA, Qualitätskontrollen in drei verschiedenen Konzentrationen innerhalb des Kalibrationsbereichs hergestellt (siehe Kapitel 3.2.1.1 Tab. 16 und Tab. 17) und fünfmal bestimmt [145]. Die Mittelwerte der über die Kalibratoren berechneten Konzentrationen wurden mit den entsprechenden Sollwerten verglichen. Die Berechnung des Bias erfolgt nach folgender Formel:

Formel 3 Berechnung des systematischen Fehlers

$\text{Bias}[\%] = \frac{\bar{x} - \mu}{\mu} * 100\%$	
\bar{x}	Mittelwert aller Bestimmungen
μ	Sollwert

Bias-Werte innerhalb eines Intervalls von $\pm 15\%$ ($\pm 20\%$ nahe der Bestimmungsgrenze) gelten als akzeptabel [144].

D Präzision

Die Präzision beschreibt den Grad der Streuung der Konzentrationen von mehrfach analysierten Proben um den Mittelwert. Die Präzision wird durch den Variationskoeffizienten (CV) ausgedrückt, der die relative Standardabweichung beschreibt [149]. Es wurden Wiederholungspräzision (intra-day precision), Laborpräzision (inter-day precision) und Vergleichspräzision ermittelt.

Die Wiederholungspräzision beschreibt die Streuung der Messwerte innerhalb eines Laufs und die Laborpräzision drückt die Streuung der Messwerte von Läufen verschiedener Tage aus. Bei der Vergleichspräzision werden Messergebnisse mit identischem Probenmaterial, aber in verschiedenen Laboratorien von verschiedenen Personen mit verschiedener Gerätschaft ermittelt [146]. Für die Wiederholungs- und Laborpräzision wurden Qualitätskontrollen in drei Konzentrationen hergestellt und jede Konzentration viermal am selben Tag (intra-day precision) oder an sechs verschiedenen Tagen (inter-day precision) gemessen. Für die Berechnung der Variationskoeffizienten wurden Peakhöhen und Standardabweichungen verwendet. Laut DIN 32645 gilt $CV \leq 15\%$ ($\leq 20\%$ nahe der Bestimmungsgrenze) als akzeptabel [144, 150]. Zur Bestimmung der Vergleichspräzision wurde an Ringversuchen (INSTAND) teilgenommen. Mithilfe von Kalibratoren bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration wurden die Wirkstoffkonzentrationen der Ringversuchslösungen bestimmt und überprüft, ob die Konzentration innerhalb des angegebenen Bewertungsbereichs liegt.

E Stabilität

Ab dem Zeitpunkt der Probenentnahme bis zum Abschluss der Bestimmung sollte die Stabilität eines Analyten gewährleistet sein. Hierfür wurden die Einfrier-/Auftaustabilität und die Langzeitstabilität unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Zur Bestimmung der Einfrier-/Auftaustabilität wurden QC-Proben in drei verschiedenen Konzentrationen hergestellt (siehe Kapitel 3.2.1.1 Tab. 16 und Tab. 17) und bei -20 °C eingefroren. Die Proben wurden jeweils an drei aufeinanderfolgenden Tagen für eine Stunde bei Raumtemperatur aufgetaut und anschließend wieder bei -20 °C eingefroren. Für die Ermittlung der Langzeitstabilität wurden QC-Proben in drei Konzentrationen für drei Tage bzw. einen Tag (nur OLA und DMOLA) bei Raumtemperatur (20 °C), für zwei und vier Wochen bei Kühlschranktemperatur (2 - 8 °C) und für ein, drei und sechs Monate bei Gefrierschranktemperatur (-20 °C) gelagert. Jede Konzentration wurde sechsmal gemessen und mit frisch hergestellten Proben verglichen. Der Mittelwert der Stabilitätsproben soll innerhalb von 90 - 110 % des entsprechenden Mittelwerts der Kontrollproben liegen [144].

F Wiederfindungsrate

Die Wiederfindung ist definiert als vollständige Übertragung des Analyten von der Matrix in die zu vermessende Lösung [149]. Die Wiederfindungsrate wird über das Verhältnis der Peakhöhe von Serum-Proben und Puffer-Proben (= 100 %) ermittelt, denen die gleiche Menge an Analyten zugesetzt wurde. Hierfür wurden drei Konzentrationen mit Poolserum und mit Eluent hergestellt und sechsmal bestimmt.

G Extraktionsausbeute

Die Extraktionsausbeute beschreibt das Ausmaß der Überführung des Analyten aus der Matrix in den primären Extrakt (bei dieser Methode nach Aufarbeitung über die Vorreinigungssäule). Normalerweise wird sie aus dem Verhältnis der Signale einer gleich zugesetzten Menge Analyt zu einer biologischen Probe und zu einem Primärextrakt einer Leermatrixprobe ermittelt. Im Falle der Online-Extraktion wurde die Extraktionsausbeute über das Verhältnis von online und offline gemessenen Puffer-Proben ermittelt. Hierfür wurden Puffer-Proben in drei Konzentrationen hergestellt und nach Aufreinigung über die Vorreinigungssäule (online) und ohne Extraktionsschritt (offline) gemessen. Jede Konzentration wurde sechsfach bestimmt. Die Extraktionsausbeute wird als Verhältnis der Peakhöhen der online gemessenen Proben zu den der offline gemessenen Proben angegeben.

H Robustheit

Die Robustheit bezeichnet die Fähigkeit einer analytischen Methode, bei kleinen Veränderungen der Messbedingungen unbeeinflusst zu bleiben [151]. Zur Ermittlung der Robustheit wurden verschiedene Methodenparameter geändert und die Verschiebung der Retentionszeiten der Analyte erfasst.

Folgende Parameter wurden geändert:

- pH-Wert des Eluenten von pH 3,1 auf pH 3,15, pH 3,2 und pH 3,0
- Säulenofentemperatur von 30 °C auf 27 °C und 33 °C
- Fließmittelgeschwindigkeit von 1,0 ml/min auf 0,9 ml/min und 1,1 ml/min
- Methanol-Gehalt des Eluenten von 10 % auf 9 % und 11 %
- Acetonitril-Gradient von 8 - 40 % auf 6 - 38 % und 10 - 42 %

I Selektivität

Selektivität ist die Fähigkeit einer analytischen Methode, die Analyten in Gegenwart anderer Substanzen bestimmen zu können. Hierfür wurden die Retentionszeiten von häufig in der Begleitmedikation aufgetretenen Arzneistoffen ermittelt und mit den Retentionszeiten der zu analysierenden Substanzen verglichen. Bei Wirkstoffen mit einer Differenz $< 0,30$ min zwischen den Retentionszeiten der getesteten Substanzen und den Retentionszeiten der Analyten der entwickelten Messmethode wurde eine mögliche Interferenz in Betracht gezogen.

3.2.2 Enzymkinetische Versuche

3.2.2.1 Herstellung der Stammlösungen und Standards

Die Stammlösungen der Analyte wurden jeweils in der Konzentration von 5 mM hergestellt und zu Stammlösungen mit Konzentrationen von 2,5 mM, 0,25 mM (nur für CLO und QUE) und 0,0025 mM (nur für CAR) verdünnt. Wenn es die Löslichkeit der Analyte erlaubte, wurden die Reinsubstanzen in Dikaliumhydrogenphosphat gelöst (MET, BIS und PRO), ansonsten in DMSO (CAR, NEB, OLA, CLO und QUE).

Für die Herstellung der Standards wurde ACN-Wasser (50:50, V/V) mit definierten Konzentrationen der jeweiligen Stammlösung versetzt. Hierfür wurden die Stammlösungen verwendet, deren Herstellung unter 3.2.1.1 beschrieben ist. Die Konzentrationen der Standards mit erlaubten Grenzen ($\pm 15\%$) sind in Tab. 18 dargestellt.

Tab. 18 Konzentrationen (ng/ml) der Standards mit erlaubten Grenzen ($\pm 15\%$)

	H		M		L		C	
Analyt	1000	850 - 1150	250	213 - 288	62,5	53 - 72	500	425 - 575

Tab. 19 Pipettierschema für die Herstellung der Standards

	H 1 $\mu\text{g/ml}$	M 250 ng/ml	L 62,5 ng/ml	C 500 ng/ml
Herstellung 5 ml				
Puffer	4,25 ml	3,75 ml	3,75 ml	4,625 ml
α-HMET	50 μl Stammlösung (100 $\mu\text{g/ml}$)	+ 1,25 ml H	+ 1,25 ml M	25 μl Stammlösung (100 $\mu\text{g/ml}$)
DMOLA				
OLA				
TIM				
MET				
DIPRO				
BIS				
DMCLO				
PRO				
CLO				
DAQUE				
4-HCAR				
QUE				
CAR				
NEB				

3.2.2.2 Versuchsdurchführung

Zur Aufklärung, in welchem Ausmaß die β -AR-Antagonisten MET, BIS, PRO, CAR und NEB und die Antipsychotika CLO und QUE über die einzelnen CYP-Isoenzyme metabolisiert werden, wurden rekombinante CYP-Isoenzyme verwendet. Die Auswahl der rekombinanten CYP-Enzyme für die entsprechenden Wirkstoffe erfolgte nach Beschreibung in der Literatur und nach der in KONBEST® hinterlegten Stoffwechselwegetabelle (siehe Kapitel 1.1.4.2 und 1.2.4.2). Der Abbau der Wirkstoffe wurde über folgende CYP-Isoenzyme untersucht:

- CLO: CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4
- QUE: CYP2D6, CYP3A4
- MET: CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4
- PRO: CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4
- CAR: CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4
- NEB: CYP2D6, CYP3A4

OLA und BIS zeigten in Vorversuchen nur einen geringfügigen Abbau, weshalb sie bei diesen Experimenten nicht berücksichtigt wurden.

Zudem wurde mithilfe humaner Leberzellmikrosomen der Metabolismus der Antipsychotika OLA, CLO und QUE und der β -AR-Antagonisten MET, BIS, PRO, CAR und NEB jeweils allein und in Kombination untersucht.

Des Weiteren wurden Experimente zur Hemmung einzelner CYP-Isoformen durchgeführt. Hierfür wurde untersucht, inwiefern:

- MET, PRO, NEB und CAR den Abbau von CLO und QUE über rekombinantes CYP2D6 inhibieren,
- CAR den Abbau von CLO über rekombinantes CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 und CYP3A4 hemmt,
- CAR den Metabolismus von QUE über rekombinantes CYP2D6 und CYP3A4 inhibiert,
- OLA den Abbau von PRO und CAR über rekombinantes CYP1A2 inhibieren,
- QUE und CLO den Abbau von MET, PRO, CAR und NEB über rekombinantes CYP2D6 hemmen.

Inhibitionsexperimente wurden mit BIS nicht durchgeführt, da in einem Vorversuch keine Hemmung des Abbaus von QUE über rekombinantes CYP2D6 durch BIS festgestellt werden konnte. Zudem wurde BIS in der Literatur nicht als CYP-Inhibitor beschrieben. In der Regel sind β -AR-Antagonisten kompetitive Hemmstoffe [8], weshalb durch die geringe

Verstoffwechslung von BIS über CYP2D6 (First-Pass-Effekt 10 %) eine Enzymhemmung unwahrscheinlich ist [16, 86].

ATE und TIM wurden in den Experimenten nicht berücksichtigt. Bei ATE ist nur ein geringfügiger Abbau zu erwarten, da ATE zu ungefähr 90 % unverändert über Urin und Faeces ausgeschieden wird [152]. Aufgrund der lokalen Anwendung als Augentropfen und der daraus resultierenden niedrigen systemischen Konzentrationen ist auch bei TIM nur mit einem geringen pharmakokinetischen Interaktionspotential zu rechnen, weshalb auf enzymkinetische Versuche mit TIM verzichtet wurde.

Die enzymkinetischen Experimente mit humanen Leberzellmikrosomen und rekombinanten CYP-Isoenzymen wurden gemäß folgendem Versuchsprotokoll durchgeführt (siehe Tab. 20). Dieses orientiert sich an den „Guidelines for Use“ der Firma Corning für Versuche mit humanen Leberzellmikrosomen und CYP-Corning-Supersomes™.

Tab. 20 Versuchsprotokoll

- HLM/CYP und NADPH-Lösung A&B auf Eis stellen

- Ansatz für 800 µl:

Einzel		Kombination
728,8 µl	Puffer	725,6 µl
40 µl	NADPH A	40 µl
8 µl	NADPH B	8 µl
3,2 µl	Substrat 2,5 mM	2 x 3,2 µl

- bei 37 °C für 5 min inkubieren

- Reaktion starten (Starten der Stoppuhr):

20 µl	HLM/CYP	20 µl
-------	---------	-------

- weiter bei 37 °C inkubieren, 300 rpm, geöffneter Deckel

- Reaktion stoppen:

90 µl entnehmen + 90 µl ACN (vorgelegt, eisgekühlt)

bei t=0 min 170 µl entnehmen und 170 µl ACN

- Entnahme nach

0 min	170 µl
15 min	90 µl
30 min	90 µl
45 min	90 µl
60 min	90 µl
75 min	90 µl
90 min	90 µl

- auf Eis stellen und anschließend bei ca. 5 °C zentrifugieren

- Pellet verwerfen, Überstand abnehmen und messen

Für die Versuchsdurchführung wurden die Wirkstoff-Stammlösungen (siehe Kapitel 3.2.2.1), die NADPH-Lösungen A und B (jeweils bei -20 °C gelagert), die rekombinanten CYP-Isoenzyme und humanen Leberzellmikrosomen (jeweils bei -80 °C gelagert) bei Raumtemperatur aufgetaut und auf Eis gestellt. In Eppendorf-Cups beschriftet nach Wirkstoff und Entnahmezeiten, wurde zum Abstoppen der Reaktion über Denaturierung der CYP-Enzyme ACN vorgelegt und bei -20 °C tiefgekühlt. Für die sofortige Probenentnahme wurden 170 µl und für die Probenentnahmen nach 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min 90 µl pipettiert. Die Inkubationsansätze, zusammengesetzt aus Dikaliumhydrogenphosphat-Puffer (pH 7,4), 40 µl NADPH-Lösung A, 8 µl NADPH-Lösung B und 3,2 µl Substrat (2,5 mM), wurden für 5 min bei 37 °C inkubiert. Über Zugabe von 20 µl HLM oder CYP-Isoenzym wurde der Versuch begonnen und je Inkubationsansatz eine Stoppuhr gestartet. Nach zweimaligem Durchmischen mithilfe der Pipette wurde ein Volumen von 170 µl entnommen und in die inzwischen auf Eis gestellten Eppendorf-Cups mit vorgelegtem ACN gegeben. Der Versuchsansatz wurde weiterhin bei 37 °C, 300 rpm und geöffneten Deckel, um eine ausreichende Sauerstoffzufuhr zu gewährleisten, inkubiert. Nach 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 µl des Inkubationsansatzes entnommen und in die entsprechenden Eppendorf-Cups mit vorgelegtem ACN pipettiert. Anschließend wurden die Cups mit einer temperierbaren Zentrifuge bei 5 °C und 13000 rpm zentrifugiert, der Überstand in Vials überführt und das Pellet verworfen (siehe Tab. 20).

Die Proben wurden entsprechend der entwickelten HPLC-Methode analysiert. Die chromatographischen Bedingungen der HPLC-Methode sind unter Kapitel 4.1.2 beschrieben. Allerdings wurde ein Einspritzvolumen von 125 µl anstatt 250 µl angewendet. Die Referenzprobe (t = 0 min) wurde zweifach bestimmt. In der Regel betrug die Probenanzahl n = 3. In einigen Fällen wurde der Versuch auch öfters ausgeführt.

Die Experimente mit CLO und QUE in Kombination mit CAR in therapeutischen Konzentrationen wurden mit einem separaten Versuchsprotokoll durchgeführt (siehe Tab. 22 und Tab. 23). Hier wurde der Abbau über HLM von CLO und QUE alleine und jeweils gemeinsam mit CAR nach einer Inkubationszeit von 60 min bestimmt. Da sich der TRB in der Regel auf die Serumkonzentrationen nach der Leberpassage bezieht, wurde der TRB mit der Bioverfügbarkeit korrigiert, um Konzentrationen zu erhalten, die die Situation vor dem „first-pass“-Effekt widerspiegeln (siehe Tab. 21).

Tab. 21 Berechnung der therapeutischen Konzentrationen durch Korrektur des TRBs mit der Bioverfügbarkeit

Analyt	TRB (ng/ml)	Bioverfügbarkeit (%)	Korrigierter TRB (ng/ml)	Gewählte Konzentration (ng/ml)	
				L	H
CAR	5 - 10	25	20 - 40	20	40
CLO	350 - 600	50 - 60	583 - 1200	600	1200
QUE	100 - 500	9	1111 - 5556	1000	5500

Die eingesetzten Konzentrationen decken die jeweiligen therapeutischen Referenzbereiche ab, indem die Konzentrationen der unteren und oberen Grenze des korrigierten therapeutischen Referenzbereichs der Antipsychotika jeweils mit den der unteren und oberen Grenze des korrigierten therapeutischen Referenzbereichs von CAR kombiniert wurden (siehe Tab. 22 und Tab. 23).

Tab. 22 Versuchsprotokoll für CLO in Kombination mit CAR in therapeutischen Konzentrationen

- HLM und NADPH-Lösung A&B auf Eis stellen

- Ansatz für 200 µl:

Puffer	CLO (ng/ml)	
CAR (ng/ml)	600	1200
20	177,6 µl	176,1 µl
40	173,7 µl	172,2 µl
0	181,5 µl	180,1 µl

NADPH A	10 µl	10 µl
NADPH B	2 µl	2 µl

CAR (ng/ml)	CLO (ng/ml)			
	600 (0,25 mM)		1200 (0,25 mM)	
	CLO	CAR	CLO	CAR
20 (0,0025 mM)	1,47 µl	3,94 µl	2,94 µl	3,94 µl
40 (0,0025 mM)	1,47 µl	7,87 µl	2,94 µl	7,87 µl
0	1,47 µl	0 µl	2,94 µl	0 µl

- bei 37 °C für 5 min inkubieren

- Reaktion starten (Starten der Stoppuhr):

HLM	5 µl	5 µl
-----	------	------

- weiter bei 37 °C inkubieren, 300 rpm, geöffneter Deckel

- Reaktion stoppen:

t = 0 min und t = 60 min: 90 µl entnehmen + 90 µl ACN (vorgelegt, eisgekühlt) und auf Eis stellen

- zentrifugieren bei ca. 5 °C

- Pellet verwerfen, Überstand abnehmen und messen

Tab. 23 Versuchsprotokoll für QUE in Kombination mit CAR in therapeutischen Konzentrationen

- HLM und NADPH-Lösung A&B auf Eis stellen

- Ansatz für 200 µl:

Puffer	QUE (ng/ml)	
CAR (ng/ml)	1000	5500
20	177,0 µl	167,6 µl
40	173,0 µl	163,7 µl
0	180,9 µl	171,5 µl

NADPH A	10 µl	10 µl
NADPH B	2 µl	2 µl

	QUE (ng/ml)			
	1000 (0,25 mM)		5500 (0,25 mM)	
CAR (ng/ml)	QUE	CAR	QUE	CAR
20 (0,0025 mM)	2,09 µl	3,94 µl	11,47 µl	3,94 µl
40 (0,0025 mM)	2,09 µl	7,87 µl	11,47 µl	7,87 µl
0	2,09 µl	0 µl	11,47 µl	0 µl

- bei 37 °C für 5 min inkubieren

- Reaktion starten (Starten der Stoppuhr):

HLM	5 µl	5 µl
-----	------	------

- weiter bei 37 °C inkubieren, 300 rpm, geöffneter Deckel

- Reaktion stoppen:

t = 0 min und t = 60 min: 90 µl entnehmen + 90 µl ACN (vorgelegt, eisgekühlt) und auf Eis stellen

- zentrifugieren bei ca. 5 °C

- Pellet verwerfen, Überstand abnehmen und messen

3.2.3 KONBEST®-Auswertung

Für die Auswertung der KONBEST®-Datenbank wurde über die Statistik-Funktion bei KONBEST® für die Wirkstoffe OLA, CLO und QUE jeweils eine Excel-Datei erstellt. Diese umfasst für jedes der drei Antipsychotika alle Proben, die bis Ende Mai 2014 gemessen wurden. Die Excel-Dateien wurden nach den β -AR-Antagonisten BIS, MET, PRO, CAR, NEB, TIM und ATE gefiltert. Über die Gesamtanzahl des jeweiligen Antipsychotikums und der Anzahl der Proben in Kombination mit einem β -AR-Antagonisten wurde die Häufigkeit ermittelt.

3.2.4 Therapeutisches Drug Monitoring der β -Adrenozeptor-Antagonisten

3.2.4.1 Patientenproben

Bei den untersuchten Serumproben handelte es sich um Patientenproben, die in das TDM-Routinelabor Regensburg zur Konzentrationsbestimmung von Psychopharmaka eingeschickt wurden. Erhielt ein Patient in der Begleitmedikation einen β -AR-Antagonisten, wurde im Rahmen dieser Arbeit dessen Blutprobe zur Konzentrationsbestimmung des β -AR-Antagonisten verwendet.

3.2.4.2 Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs

Um die Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs zu erleichtern, wurde ein Teil der Formel (siehe Formel 1 für die Berechnung mithilfe der mittleren Tageskonzentration C_{av} und Formel 2 für die Berechnung mithilfe der Talkonzentration C_{min}) zu einem Faktor zusammengefasst (siehe Formel 4 und Formel 5), der mit der individuellen Dosis (in mg) des Patienten multipliziert werden kann. Im Faktor ist die Umrechnung der mg-Angabe in ng bereits berücksichtigt, sodass man den dosisbezogenen Referenzbereich in ng/ml erhält und ihn direkt mit der gemessenen Konzentration, die in der Regel in ng/ml angegeben ist, vergleichen kann.

Formel 4 Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs (C_{av})

$$C_{av} = D \times \text{Faktor } C_{av}$$

$$\text{Faktor } C_{av} = \frac{1000000 \times f \times F}{\tau \times Cl}$$

C_{av}	mittlere Tageskonzentration (ng/ml)
D	Erhaltungsdosis (mg)
f	Umrechnungsfaktor zur Berechnung der Dosis der freien Base
F	Bioverfügbarkeit
τ	Dosisintervall (h)
Cl	totale Clearance (ml/h)

Formel 5 Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs (C_{min})

$$C_{min} = D \times \text{Faktor } C_{min}$$

$$\text{Faktor } C_{min} = \frac{1000000 \times f \times F}{\tau \times Cl} \times \frac{ke \times \tau}{1 - e^{-ke \times \tau}} \times e^{-ke \times (\Delta t - t_{max})}$$

C_{min}	Talkonzentration (ng/ml)
D	Erhaltungsdosis (mg)
f	Umrechnungsfaktor zur Berechnung der Dosis der freien Base
F	Bioverfügbarkeit
τ	Dosisintervall (h)
Cl	totale Clearance (ml/h)
ke	Eliminationskonstante: $\ln 2 / HWZ$ (1/h)
Δt	Zeitintervall zwischen Blutentnahme und letzter Tabletteneinnahme(h)
t_{max}	Zeit bis zum Erreichen des Konzentrationsmaximums (h)

Wenn der Wirkstoff in einem Fertigarzneimittel als Salz vorliegt, muss die Dosis über einen Umrechnungsfaktor (f) korrigiert werden. Anhand des Umrechnungsfaktors kann der DRB für den reinen Wirkstoff (in der Regel die Base) berechnet werden. Für CAR und ATE, die im Fertigarzneimittel nicht als Salze vorliegen, wurde der Umrechnungsfaktor $f = 1$ verwendet. Für die restlichen Wirkstoffe wurde ein Umrechnungsfaktor aus dem Molekulargewicht des Salzes und der Base berechnet (siehe Tab. 24).

Tab. 24 Umrechnungsfaktoren zur Berechnung der Dosis der freien Base

	Verhältnis Base zu Gegenion	Molekulargewicht Salz (g/mol)	Molekulargewicht Base (g/mol)	Umrechnungsfaktor f
BIS-fumarat	2:1	767	325,4	0,85
MET-tartrat	2:1	684,8	267,4	0,78
MET-succinat	2:1	652,82	267,4	0,82
PRO-HCl	1:1	295,8	259,3	0,88
NEB-HCl	1:1	441,9	405,44	0,92
TIM-maleat	1:1	432,49	316,42	0,73
CAR	1:0	-	406,47	1
ATE	1:0	-	266,34	1

Des Weiteren werden die pharmakokinetischen Daten wie Bioverfügbarkeit (F), totale Clearance (Cl) (nach Umrechnung von ml/min in ml/h) und für den Faktor C_{\min} die Eliminationshalbwertszeit (HWZ) aus Tab. 5 eingesetzt. Die Halbwertszeit fließt in die Eliminationskonstante (k_e) ein. Durch Verwendung der totalen Clearance als Mittelwert \pm Standardabweichung erhält man die obere und untere Grenze des DRBs. Bei den Wirkstoffen MET, PRO, NEB und TIM war in der Literatur keine Standardabweichung der Clearance angegeben. Hier wurde der Mittelwert aus den Variationskoeffizienten von ATE, BIS und CAR eingesetzt. Aus den Variationskoeffizienten von 28,6 %, 20,2 % und 16,7 % für ATE, BIS und CAR ergab sich ein Mittelwert von 21,8 %, der bei den Wirkstoffen MET, PRO, NEB und TIM als Variationskoeffizient verwendet wurde. So ergab sich eine Standardabweichung von $\pm 240,1$ bei MET, $\pm 87,3$ bei PRO, $\pm 187,7$ bei NEB und $\pm 122,2$ bei TIM. Sofern bei der Eliminationshalbwertszeit (HWZ) und der Bioverfügbarkeit (F) ein Bereich angegeben war, wurde mit oberer und unterer Grenze gerechnet. Als Erhaltungsdosis wurde die jeweilige (Teil-)Dosis eingesetzt, die sich auf das betrachtete Dosisintervall τ bezieht. Da der Berechnung des DRB_{av} die mittlere Tageskonzentration zugrunde liegt, wurde zur Bestimmung des Faktors C_{av} als Dosisintervall (τ) 24 h eingesetzt. Der Faktor C_{av} muss somit mit der Tagesgesamtdosis multipliziert werden. Für die Ermittlung des DRB_{\min} wurden die Faktoren C_{\min} für die Dosisintervalle $\tau = 24$ h (bei einmal täglicher Gabe), $\tau = 12$ h (bei zweimal täglicher Gabe) und $\tau = 8$ h (bei dreimaliger Gabe) bestimmt. Der Faktor C_{\min} muss mit der entsprechenden Teildosis multipliziert werden. Die Berechnung von DRB_{\min} auf diese Art setzt voraus, dass die Dosis auf gleichgroße Teildosen aufgeteilt ist und die Einnahme gleichmäßig über den Tag verteilt ist. Bei einer Aufteilung der Dosis auf zwei Gaben täglich muss die Tabletteneinnahme um 8.00 Uhr und 20.00 Uhr erfolgen, bei dreimal täglicher Applikation um 8.00 Uhr, 16.00 Uhr und 24.00 Uhr. In der Klinik erfolgt die Medikamentenausgabe in der Regel zu den Mahlzeiten, sodass eine gleichmäßig über den

Tag verteilte Tabletteneinnahme in der Praxis nicht realistisch ist. Um dennoch eine Berechnung bei ungleichmäßig über den Tag verteilter Tabletteneinnahme und ungleichen Teildosen zu ermöglichen, wurde der dosisbezogene Referenzbereich für die Tabletteneinnahme jeder einzelnen Teildosis isoliert berechnet (mit jeweils einem Dosierungsintervall von 24 h) und anschließend addiert (siehe Formel 6).

Formel 6 Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs (C_{min}) bei unterschiedlich großen Teildosen oder ungleichmäßig über den Tag verteilter Medikamenteneinnahme

Bei zweimal täglicher Arzneimittleinnahme:

$$C_{min} = D_1 \times \text{Faktor } C_{min_1} + D_2 \times \text{Faktor } C_{min_2}$$

Bei dreimal täglicher Arzneimittleinnahme:

$$C_{min} = D_1 \times \text{Faktor } C_{min_1} + D_2 \times \text{Faktor } C_{min_2} + D_3 \times \text{Faktor } C_{min_3}$$

Bei viermal täglicher Arzneimittleinnahme:

$$C_{min} = D_1 \times \text{Faktor } C_{min_1} + D_2 \times \text{Faktor } C_{min_2} + D_3 \times \text{Faktor } C_{min_3} + D_4 \times \text{Faktor } C_{min_4}$$

$$\text{Faktor } C_{min_i} = \frac{1000000 \times f \times F}{24 \text{ h} \times \text{Cl}} \times \frac{ke \times 24 \text{ h}}{1 - e^{-ke \times 24 \text{ h}}} \times e^{-ke \times (\Delta t_i - t_{max})}$$

C_{min}	Talkonzentration (ng/ml)
D_i	Teildosis (mg) der ersten (D_1), zweiten (D_2), dritten (D_3) oder vierten (D_4) Arzneistoffeinnahme pro Tag
f	Umrechnungsfaktor zur Berechnung der Dosis der freien Base
F	Bioverfügbarkeit
τ	Dosisintervall (h)
Cl	totale Clearance (ml/h)
ke	Eliminationskonstante: $\ln 2 / \text{HWZ}$ (1/h)
Δt_i	Zeitintervall zwischen Blutentnahme und letzter Einnahme der entsprechenden Teildosis D_1 , D_2 , D_3 oder D_4 (h)
t_{max}	Zeit bis zum Erreichen des Konzentrationsmaximums (h)

Zur Bestimmung des Zeitintervalls Δt werden die Zeitpunkte der letzten Tabletteneinnahme und der Blutabnahme benötigt. Auf den Anforderungsbögen sind keine genauen Zeitangaben zur Tabletteneinnahme verzeichnet, weshalb die vermerkten Einnahmezeiten „morgens“, „mittags“, „abends“ und „zur Nacht“ auf 8.00 Uhr, 13.00 Uhr, 18.00 Uhr und 21.00 Uhr festgelegt wurden (siehe Tab. 25). Fehlte die Zeitangabe der Blutentnahme, wurde eine Entnahme um 8.00 Uhr vor der morgendlichen Tabletteneinnahme angenommen. Daraus ergaben sich die in Tab. 25 aufgeführten Zeitintervalle. Da sich die Berechnung auf die postabsorptive Phase bezieht (siehe Kapitel 1.4.2), muss von diesem Zeitintervall die Zeit bis

zum Erreichen der maximalen Konzentration (C_{max}) abgezogen werden. Die Zeiten bis zum Erreichen von C_{max} sind für die verschiedenen β -AR-Antagonisten in Tab. 5 aufgeführt.

Tab. 25 Ermittelte Zeitintervalle zwischen (angenommener) Blutentnahme um 8.00 Uhr und letzter Tabletteneinnahme

Letzte Tabletteneinnahme	Uhrzeit	Zeitintervall Δt (h)
morgens	8.00 Uhr	24
mittags	13.00 Uhr	19
abends	18.00 Uhr	14
nachts	21.00 Uhr	11

Bei MET gilt zu beachten, dass Fertigarzneimittel mit zwei verschiedenen MET-Salzen eingesetzt werden (siehe Tab. 24). Welches Salz verabreicht wurde, ist anhand der Dosis zu erkennen. Bei einer Dosis von 23,75 mg, 47,5 mg, 95 mg und 190 mg wurde MET-succinat verwendet, bei einer Dosis von 25 mg, 50 mg, 100 mg und 200mg wurde MET-tartrat eingesetzt.

3.2.4.3 Ermittlung des Zeitintervalls bei vergleichbaren DRB_{av} und DRB_{min}

Wählt man die Blutabnahme zu einem bestimmten Zeitpunkt nach der letzten Tabletteneinnahme, ergeben sich sowohl mit der Berechnung über die mittlere Tageskonzentration (C_{av}) als auch über die Talkonzentration (C_{min}) gleiche dosisbezogene Referenzbereiche. Für die Berechnung dieses Zeitintervalls (Δt) wurde die Formel zur Ermittlung der mittleren Tageskonzentration (C_{av}) mit der Formel zur Bestimmung der Talkonzentration (C_{min}) gleichgesetzt und nach dem Zeitintervall Δt aufgelöst (siehe Formel 7).

Formel 7 Berechnung des Zeitintervalls bei vergleichbaren DRB_{av} und DRB_{min}

$$C_{av} = C_{min}$$

$$\frac{D \times f \times F}{\tau \times Cl} = \frac{D \times f \times F}{\tau \times Cl} \times \frac{ke \times \tau}{1 - e^{-ke \times \tau}} \times e^{-ke \times (\Delta t - t_{max})}$$

$$\Delta t = t_{max} - \frac{1}{ke} \times \ln \left(\frac{1 - e^{-ke \times \tau}}{ke \times \tau} \right)$$

C _{av}	mittlere Tageskonzentration (ng/ml)
C _{min}	Talkonzentration (ng/ml)
D	Erhaltungsdosis (ng)
f	Umrechnungsfaktor zur Berechnung der Dosis der freien Base
F	Bioverfügbarkeit
τ	Dosisintervall (h)
Cl	totale Clearance (ml/h)
ke	Eliminationskonstante: ln2/HWZ (1/h)
Δt	Zeitintervall zwischen Blutentnahme und letzter Tabletteneinnahme(h)
t _{max}	Zeit bis zum Erreichen des Konzentrationsmaximums (h)

Die Dosisintervalle wurden entsprechend der empfohlenen Häufigkeit der Tabletteneinnahme ausgewählt. Bei BIS, retardiertem MET und NEB wird die Einnahme einmal am Tag (τ = 24 h) empfohlen [74, 78, 80]. Bei unretardiertem MET, CAR und ATE ist eine ein- (τ = 24 h) bis zweimalige (τ = 12 h) Tablettengabe vorgesehen [73, 75, 79]. TIM soll zweimal täglich (τ = 12 h) appliziert werden [81] und bei PRO wird eine zwei- (τ = 12 h) bis dreimal tägliche (τ = 8 h) Einnahme angestrebt [76]. Voraussetzung bei dieser Berechnung ist eine gleichmäßig über den Tag verteilte Medikamenteneinnahme und gleichgroße Teildosen. Die Zeit bis zum Erreichen des Konzentrationsmaximums (t_{max}) und die Halbwertszeit wurden aus Tab. 5 (Kapitel 1.2.4.1) entnommen. War ein Bereich angegeben, wurde zur Vereinfachung der mittlere Wert verwendet. Somit wurde bei BIS, MET, PRO, CAR und TIM mit t_{max} von 1,5 h, für ATE von 3 h und für NEB von 2,7 h gerechnet. Bei BIS wurde eine Halbwertszeit von 11 h, bei PRO und MET von 3,5 h, bei CAR von 7 h, bei NEB von 22 h, bei ATE von 7,5 h und bei TIM von 5,5 h eingesetzt.

4. Ergebnisse

4.1 Entwicklung einer HPLC/UV- Messmethode zur Bestimmung von Antipsychotika und β -Adrenozeptor-Antagonisten

4.1.1 Vorversuche

4.1.1.1 Säulenauswahl

Als erster Schritt der Methodenentwicklung wurde eine Analysensäule ausgewählt. MET, BIS und PRO konnten bereits im Rahmen der Interferenzmessungen in der Arbeit von Ralf Köber mit einer Luna® Phenyl-Hexyl 3 μ m (150x3 mm) Analysensäule von Phenomenex nachgewiesen werden, weshalb für die ersten Versuche diese Säule verwendet wurde [150]. Nach Umstellung auf 250x4.6 mm Säulen und Testung diverser Säulenmaterialien wie Octadecylsilan (ODS) und Pentafluorphenyl (PFP) kehrte ich zu dem ursprünglich verwendeten Säulenmaterial Phenyl-Hexyl zurück. Mit der Gemini® Phenyl Hexyl 110A 5 μ m (250x4.6 mm) Säule wurden die besten Ergebnisse erzielt. Bei den getesteten ODS-Säulen und der PFP-Säule handelte es sich um eine PerfectSil® ODS-L 120 5 μ m (250x4.6 mm) Säule von MZ-Analytical, eine Hyperclone™ ODS 120 5 μ m (250x4.6 mm) Säule von Phenomenex und eine Luna® PFP (2) 5 μ m 100A (250x4.6 mm) Säule ebenfalls von Phenomenex (siehe Kapitel 3.1.2 Tab. 11).

Mit der ausgewählten Gemini® Phenyl Hexyl Säule kam es zu einer Überlagerung der Signale von BIS und VEN (siehe Kapitel 4.1.3H). Da BIS und VEN häufig gemeinsam verordnet werden, wurde eine Synergi™ Hydro-RP 80 A 4 μ m (250 x 4,60 mm) als Alternativsäule verwendet, um eine Bestimmung von BIS in Gegenwart von VEN zu ermöglichen (siehe Kapitel 3.1.2 Tab. 11).

Für eine schnelle, einfache Bestimmung von Serum-Proben wurde für die Probenaufreinigung das online Extraktions-Verfahren ausgewählt. Als Vorreinigungssäulen wurden die Säulen PerfectBond® C8 (20 μ m) und LiChrospher® RP-4 ADS (25 μ m) von Merck getestet. Die LiChrospher® RP-4 ADS Vorreinigungssäule zeigte vor allem bei den hydrophileren Substanzen bessere Ergebnisse und wurde aus diesem Grund für die entwickelte Methode verwendet (siehe Kapitel 3.1.2 Tab. 9).

4.1.1.2 Fließmittelzusammensetzung

Als Eluent für die Vorreinigung wurde ein Gemisch aus 8 % Acetonitril und Wasser verwendet (v/v). Als Fließmittel für die Analysensäule diente eine Kaliumdihydrogenphosphatpuffer/Methanol-Mischung (Fließmittel A). Da sich die zu testenden Substanzen sehr stark in ihrer Lipophilie unterscheiden, wurde ein Fließmittelgradient mit Acetonitril (Fließmittel B) verwendet. Durch die Erhöhung der organischen Komponente im Fließmittel wird die Verweildauer der Substanzen auf der Analysensäule verkürzt. So ist es möglich, durch einen Anstieg des organischen Anteils neben schwach lipophilen Substanzen auch stark lipophile Analyte zu eluieren. Es wurden Gradientenstärken mit einem Anstieg des ACN-Anteils um 1 %/min, 2 %/min und 3 %/min verwendet. Ein ACN-Anstieg um 1 %/min stellte sich als am geeignetsten heraus, da bei einer höheren Gradientenstärke die Elution der Substanzen mit ähnlicher Lipophilie fast zeitgleich erfolgte (PRO, CLO, DAQUE und 4-HCAR). Zur Optimierung der Trennleistung wurden Änderungen des Methanol-Gehalts von 0 % über 5 % zu 10 % getestet. Ein Methanol-Anteil von 10 % (v/v) zeigte die beste Trennung der Analyten. Variationen des pH-Werts hatten Einfluss auf die Retentionszeiten einzelner Substanzen. Bei einer Erniedrigung des pH-Werts wurden die Retentionszeiten von OLA, DMCLO, CLO, DAQUE und QUE verkürzt. So konnte auch über den pH-Wert die Trennung der Analyte optimiert werden.

4.1.2 Chromatographische Bedingungen der entwickelten Methode

Die chromatographischen Bedingungen der entwickelten Methode sind in Tab. 26 aufgeführt.

Tab. 26 Übersicht über die chromatographischen Bedingungen

Vorreinigungssäule	LiChrospher RP-4 ADS 25 µm (Merck)
Analysensäule	Gemini Phenyl Hexyl 110A 5µm 250x4.6mm (Phenomenex)
Vorsäule	Gemini Phenyl-Hexyl 4 x 3.0 mm (Phenomenex)
Injektionsvolumen	250 µl
Autosamplertemperatur	20°C
Säulenofentemperatur	30°C
Fließmittel der Vorreinigungssäule	8 % ACN in Wasser
Fließmittel A der Analysensäule	Mischung aus KH ₂ PO ₄ -Puffer (20 mM) und 10 % MeOH (V/V), pH 3,1
Fließmittel B der Analysensäule	100 % ACN
Fließmittelgradient (Fließmittel A und B)	8 min isokratisch bei 8 % ACN, dann Gradient von 8 % auf 40 % ACN bis Minute 40
Stärke des Fließmittelgradienten	Anstieg des ACN-Anteils um 1 %/min
Flussrate	1 ml/min
Wellenlänge	215 nm, 226 nm, 242 nm, 299 nm

In den ersten zwei Minuten werden die Analyten der Vorreinigungssäule zugeführt und dort zurückgehalten, während das Serum in den Abfall gespült wird. Anschließend schaltet das Ventil von der Vorreinigungssäule auf die Analysensäule um. Über das Fließmittel der Analysensäule werden die Substanzen von der Vorreinigungssäule auf die Analysensäule eluiert. Hier erfolgt die Trennung der Analyten. Nach weiteren zwei Minuten schaltet das Ventil in den Extraktionsmodus zurück. Bis Minute 8 wird mit einem ACN-Anteil von 8 % isokratisch gemessen. Danach wird der ACN-Gehalt um 1 % pro Minute erhöht, bis auf 40 % am Ende der Messung von 40 min.

Ein repräsentatives Chromatogramm wird in Abb. 14 gezeigt.

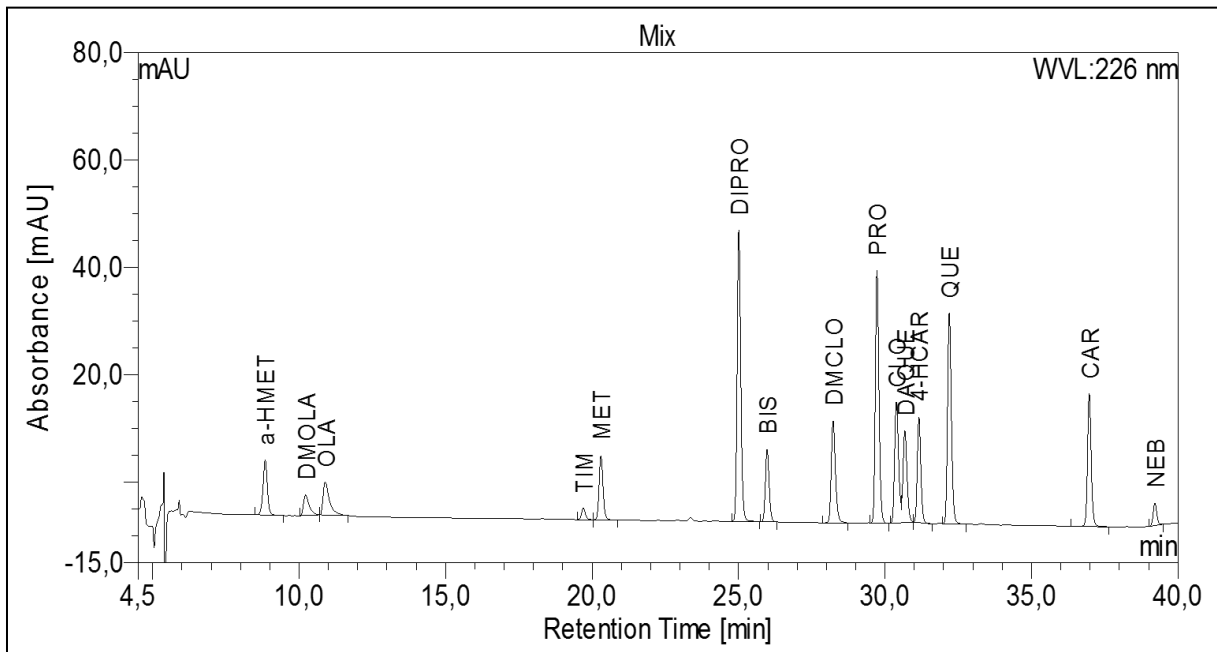


Abb. 14 Chromatogramm der 15 Analyten in Serum jeweils in einer Konzentration von 250 ng/ml unter den in Tab. 26 aufgeführten chromatographischen Bedingungen

Tab. 27 führt die Retentionszeiten der Analyten auf und verzeichnet, bei welcher Wellenlänge die Messung der jeweiligen Substanz erfolgt.

Tab. 27 Retentionszeiten der Analyten

Analyt	Retentionszeit (min)	Wellenlänge (nm)
α -HMET	8,84	226
DMOLA	10,22	242
OLA	10,89	242
TIM	19,70	299
MET	20,30	226
DIPRO	25,01	215
BIS	25,97	226
DMCLO	28,23	215
PRO	29,72	215
CLO	30,39	215
DAQUE	30,68	215
4-HCAR	31,16	242
QUE	32,19	215
CAR	36,97	242
NEB	39,21	215

4.1.3 Validierung

A Analytische Grenzen

Tab. 28 zeigt die Nachweisgrenze der verschiedenen Analyten, ermittelt über das Signal-Rausch-Verhältnis. Der Peak muss die dreifache Höhe des Grundrauschens aufweisen. Bei den als Bestimmungsgrenze gewählten Konzentrationen war bei allen Analyten der Variationskoeffizient geringer als die geforderten 20 % und der Bias lag innerhalb eines Intervalls von ± 20 %.

Tab. 28 Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze der Analyten

Analyt	Nachweisgrenze (ng/ml)	Bestimmungsgrenze (ng/ml)	Präzision (%)	Richtigkeit (%)
α -HMET	1,43	5,00	4,53	17,20
DMOLA	1,33	2,50	12,90	17,60
OLA	2,50	2,50	7,21	11,20
TIM	2,50	5,00	11,80	-3,20
MET	2,50	5,00	6,48	-7,60
DIPRO	1,26	1,25	11,68	-7,20
BIS	1,18	5,00	13,00	-7,60
DMCLO	3,30	5,00	14,65	-7,20
PRO	1,11	1,25	10,37	5,60
CLO	1,12	5,00	11,84	-14,40
DAQUE	1,89	5,00	11,38	-10,00
4-HCAR	0,91	2,50	15,94	-4,00
QUE	0,96	5,00	11,62	-8,80
CAR	0,97	2,50	10,00	14,40
NEB	15,79	40,00	7,49	-8,60

B Linearität

Aus den Mittelwerten ($n = 6$) der absoluten Peakhöhen wurde mithilfe linearer Regression die dazugehörige Geradengleichung ermittelt (siehe Tab. 29). Der in der DIN-32645-Vorgabe verlangte Korrelationskoeffizient von $r^2 \geq 0,98$ wurde bei allen Substanzen erfüllt.

Tab. 29 Bestimmung der Linearität der verschiedenen Analyten

Analyt	TRB (ng/ml)	Linearer Bereich (ng/ml)	r^2	LOQ (ng/ml)
α -HMET	35-500	5-600	0,9948	$y = 0,0156x + 0,3314$
DMOLA	20-80	2,5-320	0,9993	$y = 0,0386x + 0,1718$
OLA	20-80	2,5-320	1,0000	$y = 0,0513x - 0,108$
TIM	10-40	5-200	0,9989	$y = 0,029x + 0,087$
MET	35-500	5-600	0,9988	$y = 0,0387x + 0,4276$
DIPRO	20-300	1,25-400	0,9996	$y = 0,2181x + 0,8185$
BIS	10-100	5-200	0,9981	$y = 0,0415x + 0,1411$
DMCLO	350-600	5-3200	0,9986	$y = 0,0801x + 3,9679$
PRO	20-300	1,25-400	0,9995	$y = 0,2034x + 0,7444$
CLO	350-600	5-3200	0,9990	$y = 0,0898x + 2,855$
DAQUE	100-500	5-2000	0,9992	$y = 0,0784x + 1,3209$
4-HCAR	5-10	2,5-80	0,9984	$y = 0,0476x - 0,0015$
QUE	100-500	5-2000	0,9988	$y = 0,1706x + 4,8481$
CAR	5-10	2,5-80	0,9940	$y = 0,0364x - 0,0195$
NEB	88-195	40-1600	0,9995	$y = 0,0131x + 0,0027$

In Abb. 15 werden die entsprechenden Kalibriergeraden der jeweiligen Analyten dargestellt.

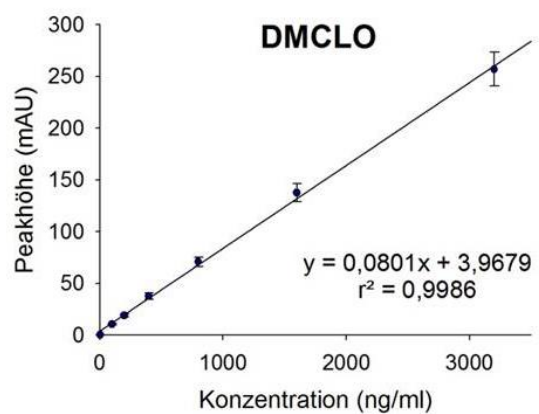
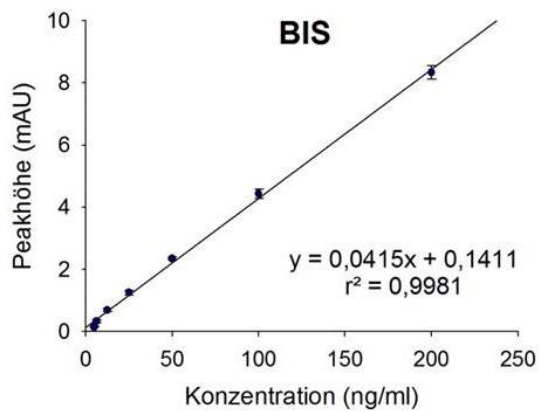
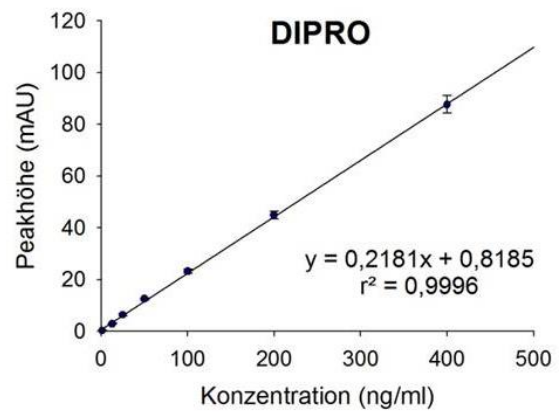
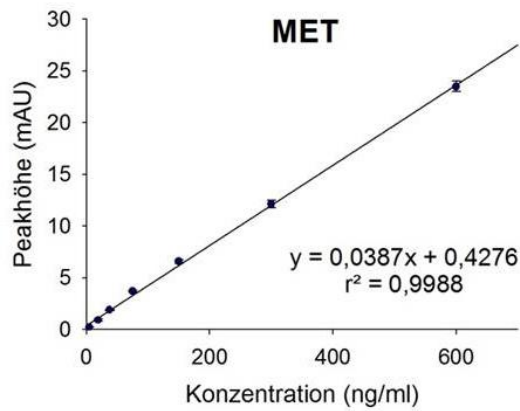
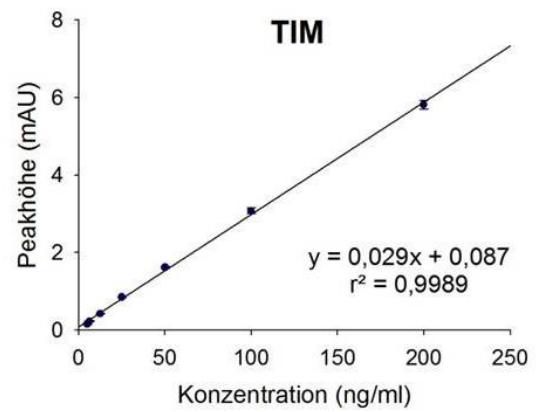
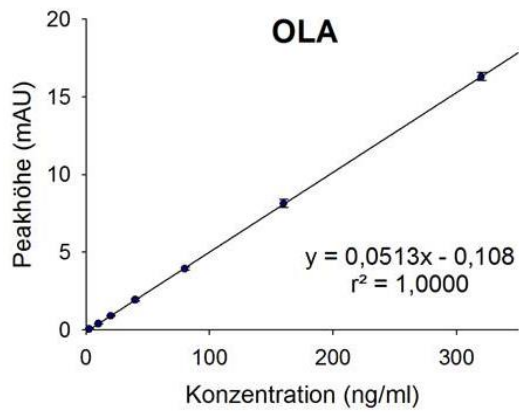
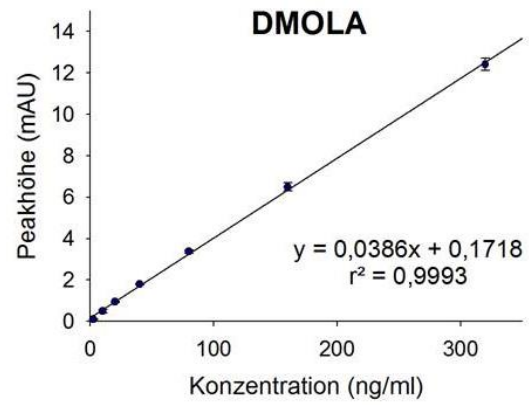
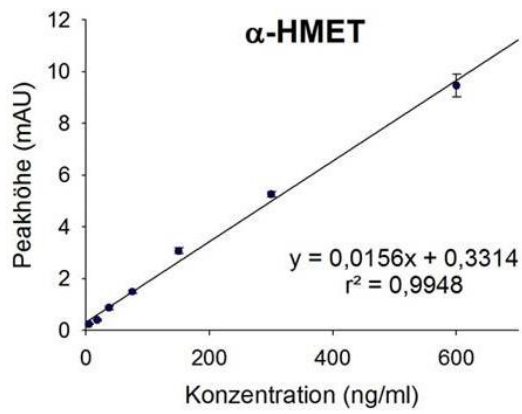


Abb. 15 Kalibriergeraden der jeweiligen Analyten

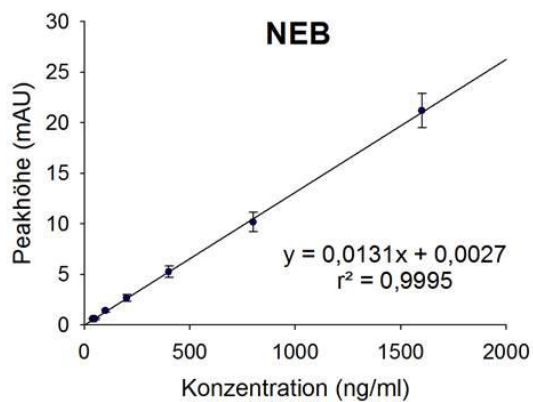
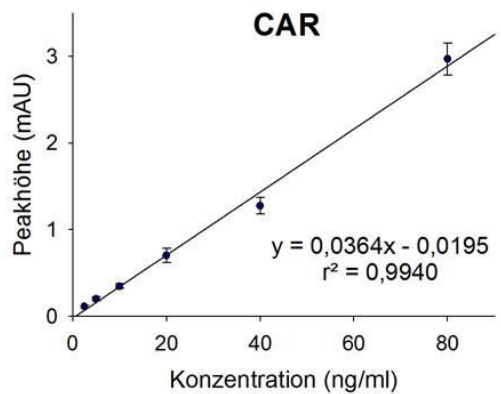
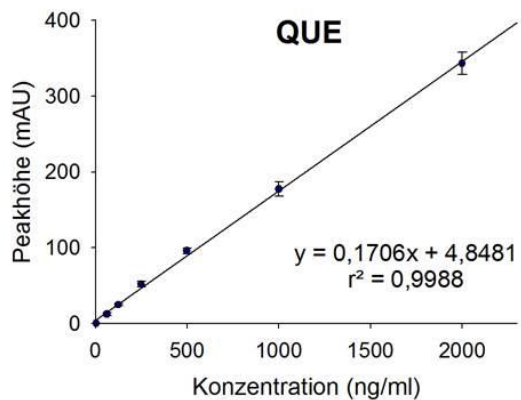
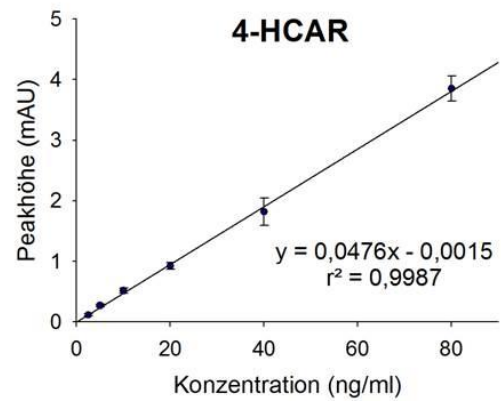
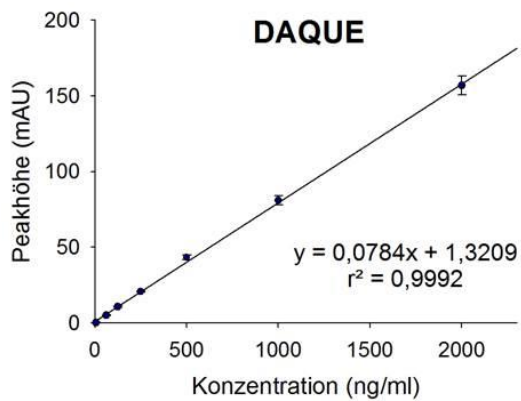
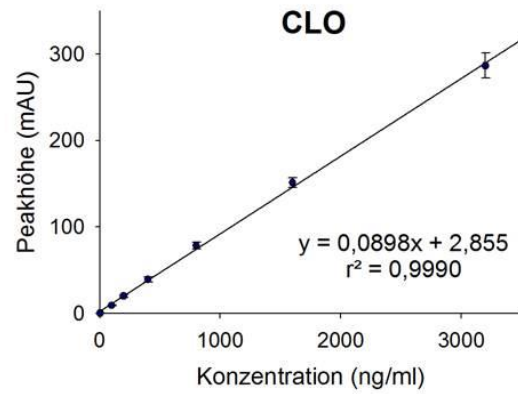
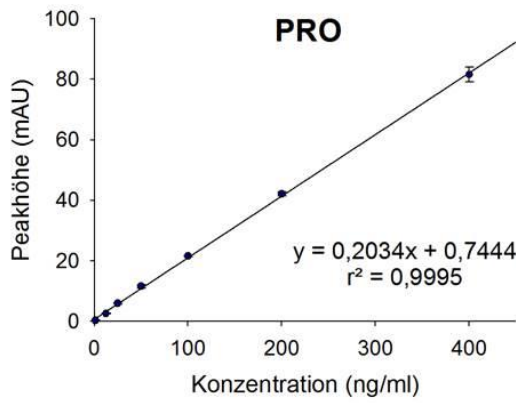


Abb. 15 Kalibriergeraden der jeweiligen Analyten (Fortsetzung)

C Richtigkeit

Das Ausmaß der Richtigkeit, ausgedrückt über den systematischen Fehler (Bias), ist für jeden Analyten bei drei verschiedenen Konzentrationen in Tab. 31 dargestellt. Die Abweichungen der über die Kalibrierkurve bestimmten Konzentrationen vom Sollwert lagen innerhalb des nach DIN 32645 geforderten Intervalls von $\pm 15\%$ ($\pm 20\%$ nahe der Bestimmungsgrenze).

D Präzision

Wiederholungspräzision (intra-day precision) und Laborpräzision (inter-day precision), welche die Schwankungen der Messwerte innerhalb eines Laufs bzw. von Läufen verschiedener Tage beschreiben, sind in Tab. 31 aufgeführt. Alle Variationskoeffizienten liegen innerhalb der nach DIN 32645 geforderten Grenze von $\leq 15\%$ ($\leq 20\%$ nahe der Bestimmungsgrenze).

Die Vergleichspräzision wurde für CLO, DMCLO, OLA und QUE durchgeführt. Für die restlichen Substanzen gab es zu diesem Zeitpunkt keine Instand-Ringversuche.

Alle Messwerte der bestimmten Instand-Proben lagen innerhalb des angegebenen Bewertungsbereichs (siehe Tab. 30).

Tab. 30 Bestimmung der Vergleichspräzision über Instand Ringversuche

Instand e.V. Ringversuche/ Psychopharmaka 03 (862)					
Januar 2015	Probe	Zielwert	Bewertungsbereich	Messwert	Abweichung (%)
CLO	11	485	369 - 601	486	0,2
	12	658	500 - 816	650	-1,2
DMCLO	11	276	210 - 342	297	7,6
	12	452	344 - 560	479	6,0
OLA	11	58,4	44,4 - 72,4	54	-7,5
	12	97,3	73,9 - 121	94	-3,4
QUE	11	480	365 - 595	497	3,5
	12	641	487 - 795	655	2,2

Tab. 31 Richtigkeit, Intraday- und Interday- Präzision

Analyt	Konzentration (ng/ml)	Richtigkeit Bias (%)	Intraday Präzision CV (%)	Interday Präzision CV (%)
α-HMET	18,75	0,72	9,98	12,07
	75	2,44	11,32	8,18
	300	-3,32	4,14	4,40
DMOLA	10	-13,42	11,31	12,99
	40	-8,02	12,51	9,29
	160	6,29	4,74	6,02
OLA	10	14,23	12,86	13,46
	40	2,73	5,00	10,34
	160	11,50	10,40	6,79
TIM	6,25	-3,45	9,27	12,82
	25	5,52	14,24	11,07
	100	12,24	4,31	7,10
MET	18,75	-12,85	9,54	12,12
	75	-0,90	12,71	9,95
	300	8,44	4,17	6,11
DIPRO	12,5	-9,64	13,21	10,92
	50	3,73	11,79	8,80
	200	13,17	5,95	8,83
BIS	6,25	-11,75	10,99	12,17
	25	-0,64	7,36	9,62
	100	11,64	6,90	6,40
DMCLO	100	-6,97	9,40	9,12
	400	-12,78	6,63	7,36
	1600	-3,08	4,76	8,02
PRO	12,5	-0,35	0,63	5,07
	50	-1,91	1,31	6,35
	200	11,77	12,02	6,45
CLO	100	-1,77	12,31	8,32
	400	14,04	1,51	6,00
	1600	-3,41	7,99	4,51
DAQUE	62,5	-5,45	8,24	9,74
	250	6,63	1,83	4,31
	1000	13,06	2,10	7,02
4-HCAR	2,5	11,63	11,61	14,82
	10	-9,51	11,04	7,48
	40	-1,27	5,42	5,74
QUE	62,5	-2,37	11,36	8,25
	250	11,75	9,60	8,20
	1000	-0,43	2,31	7,28
CAR	2,5	-10,63	11,17	13,76
	10	13,20	8,66	13,96
	40	14,73	7,95	8,24
NEB	50	-1,18	14,62	14,15
	200	-10,03	10,11	9,54
	800	-8,50	8,99	8,54

E Stabilität

Die Mittelwerte der Einfrier-/Auftauproben (vier Einfrier-/Auftauzyklen) lagen innerhalb von 90 - 110 % des Kontrollwertes und erfüllten somit die DIN-32645-Vorgabe (siehe Tab. 32).

Bis auf DMOLA und OLA lagen bei allen untersuchten Substanzen die Mittelwerte der Stabilitätsproben nach dreitägiger Lagerung bei Raumtemperatur, einmonatiger Lagerung im Kühlschrank (KS) und sechsmonatiger Lagerung im Gefrierschrank (GS) innerhalb von 90 - 110 % des Sollwertes vom entsprechenden Kontrollprobenmittelwert und entsprachen somit der DIN-32645-Vorgabe (siehe Tab. 32). Bei DMOLA und OLA wurden die Stabilitätsvorgaben bei Raumtemperatur für einen Tag und im Gefrierschrank für drei Monaten erfüllt.

Tab. 32 Einfrier-/Auftaustabilität und Langzeitstabilität

Analyt	Konzentration (ng/ml)	Auftau-Einfrier-Stabilität (%)	3 Tage/1 Tag Raumtemperatur (%)	1 Monat Kühlschrank (%)	3 Monate Gefrierschrank (%)	6 Monate Gefrierschrank (%)
α-HMET	18,75	102,05	101,32	92,20	98,40	99,72
	75	109,00	95,74	95,63	98,20	98,78
	300	105,80	98,90	103,23	109,50	109,48
DMOLA	10	104,33	72,17/105,48	91,94	108,04	68,55
	40	98,93	61,39/103,18	91,34	91,47	33,18
	160	99,73	69,51/98,21	99,72	93,11	16,56
OLA	10	101,18	89,83/105,76	95,62	100,87	67,73
	40	97,38	76,90/105,02	100,69	94,36	31,40
	160	97,75	72,25/99,98	97,49	92,58	12,22
TIM	6,25	99,26	97,12	100,00	100,79	107,50
	25	100,84	97,26	95,15	102,52	105,34
	100	104,82	101,36	92,28	108,95	108,26
MET	18,75	96,63	96,54	94,34	103,06	106,10
	75	104,78	101,74	91,05	106,23	97,95
	300	102,56	102,56	91,56	106,29	108,51
DIPRO	12,5	104,90	99,28	91,78	108,71	108,04
	50	106,97	100,69	92,31	97,25	99,34
	200	106,70	103,84	92,27	100,11	107,16
BIS	6,25	101,01	94,85	94,32	104,40	98,30
	25	103,62	101,55	98,24	99,68	97,88
	100	101,54	101,42	94,09	97,90	105,96
DMCLO	100	102,43	104,16	94,55	109,89	108,58
	400	104,86	107,13	91,98	104,03	107,17
	1600	107,95	101,20	96,68	109,50	108,90
PRO	12,5	103,51	103,95	94,74	106,57	107,28
	50	101,50	100,85	97,31	100,05	99,12
	200	107,83	101,56	96,84	104,98	107,10
CLO	100	104,01	102,11	96,52	102,05	103,36
	400	102,02	106,64	96,08	92,57	96,76
	1600	109,12	100,36	97,79	99,50	107,80
DAQUE	62,5	102,69	98,04	97,15	108,34	107,96
	250	102,29	105,80	93,84	95,71	91,39
	1000	109,69	103,92	92,68	105,88	96,04
4-HCAR	2,5	95,20	104,41	99,00	108,77	99,00
	10	103,27	104,64	97,29	96,18	100,45
	40	95,51	97,67	100,12	99,72	100,12
QUE	62,5	100,10	102,93	99,31	101,19	102,30
	250	101,13	100,35	94,84	93,98	93,81
	1000	109,79	100,40	100,68	102,26	107,87
CAR	2,5	96,72	98,51	97,46	98,44	95,59
	10	106,83	104,14	93,88	91,56	101,36
	40	101,23	99,20	90,31	91,66	107,61
NEB	50	99,13	100,31	103,65	108,26	105,48
	200	109,62	104,44	90,02	107,48	104,07
	800	108,85	98,91	92,55	105,53	103,50

F Wiederfindungsrate und Extraktionsausbeute

Tab. 33 zeigt die ermittelte Wiederfindungsrate und die Extraktionsausbeute der verschiedenen Analyten in Serum bei jeweils drei verschiedenen Konzentrationen.

Tab. 33 Wiederfindungsrate

Analyt	Konzentration (ng/ml)	Wiederfindung (%)	Extraktionsausbeute (%)	Analyt	Konzentration (ng/ml)	Wiederfindung (%)	Extraktionsausbeute (%)
α-HMET	18,75	101,34	99,20	PRO	12,5	106,30	93,44
	75	95,44	98,46		50	105,05	96,61
	300	93,75	98,55		200	102,16	98,49
DMOLA	10	107,62	101,45	CLO	100	105,51	98,47
	40	99,29	99,90		400	104,26	96,37
	160	96,23	102,05		1600	101,03	97,52
OLA	10	101,72	102,47	DAQUE	62,5	95,52	96,39
	40	97,31	101,64		250	102,16	91,77
	160	93,78	103,70		1000	100,05	94,14
TIM	6,25	100,00	101,46	4-HCAR	2,5	103,82	97,76
	25	100,00	100,00		10	101,70	101,34
	100	97,25	95,78		40	100,40	93,07
MET	18,75	108,50	99,80	QUE	62,5	107,26	98,60
	75	103,30	99,31		250	104,74	96,96
	300	102,14	95,85		1000	99,18	97,12
DIPRO	12,5	102,66	93,93	CAR	2,5	99,50	101,00
	50	103,46	94,30		10	105,70	94,38
	200	101,84	94,82		40	95,47	94,01
BIS	6,25	100,52	102,12	NEB	50	108,00	104,85
	25	98,07	98,37		200	99,38	100,55
	100	99,35	98,67		800	100,34	94,87
DMCLO	100	108,23	91,14				
	400	104,73	92,49				
	1600	105,83	95,35				

G Robustheit

Veränderungen der Messbedingungen zeigten unterschiedlichen Einfluss auf die Retentionszeiten der verschiedenen Substanzen. Teilweise veränderten sich die Retentionszeiten nur von einzelnen Arzneistoffen.

Eine pH-Wert-Änderung (siehe Tab. 34 und Abb. 16) machte sich vor allem bei den Retentionszeiten von OLA (Peaknummer 3), DMCLCLO (8), CLO (10), DAQUE (11) und QUE (13) bemerkbar. Bei diesen fünf Substanzen verkürzte sich die Retentionszeit bei niedrigerem pH-Wert bzw. verlängerte sich bei höheren pH-Wert deutlicher als bei den restlichen Analyten. Die Abweichung der Retentionszeiten unter veränderten Messbedingungen im Vergleich zu den Retentionszeiten unter Standardbedingungen war bei den fünf genannten Arzneistoffen am größten.

Eine Änderung der Säulenofentemperatur (siehe Tab. 35 und Abb. 17) zeigte sich am deutlichsten bei DIPRO (6), PRO (9), 4-HCAR (12) und CAR (14). Bei einer Temperaturerniedrigung verlängerten sich die Retentionszeiten, bei Temperaturerhöhung verkürzten sich die Retentionszeiten. Vor allem die Temperaturerniedrigung wirkte sich ungünstig auf die Trennung von PRO und CLO aus.

Bei Variationen der Fließgeschwindigkeit (siehe Tab. 36 und Abb. 18), des MeOH-Anteils an Fließmittel A (siehe Tab. 37 und Abb. 19) und des ACN-Gradienten (siehe Tab. 38 und Abb. 20) veränderten sich die Retentionszeiten der verschiedenen Arzneistoffe in gleichem Ausmaß. Auch wenn die Änderung des ACN-Gradienten keinen Einfluss auf die Trennleistung dieser Methode hatte, so zeigte sie mit einer Differenz von +/- 2 min den größten Effekt auf die Retentionszeiten der Analyten.

Die Zuordnung der Peaknummern zu den entsprechenden Analyten ist den zugehörigen Tabellen zu entnehmen (z. B. Tab. 34). In den Tabellen ist die Retentionszeit (t_R) unter Standardbedingungen (pH 3,1, Säulenofentemperatur 30 °C, Fließgeschwindigkeit 1,0 ml/min, MeOH-Anteil 10 % und ACN-Gradient von 8 - 40 %) als Referenz angegeben. Die Abweichung der Retentionszeiten unter veränderten Messbedingungen von der Retentionszeit unter Standardbedingungen wird über deren Differenz dargestellt.

Tab. 34 Veränderung des pH-Werts

Nr.	Analyt	pH-Wert							
		3,1		3,05		3,15		3,2	
		t _R	t _R	Differenz	t _R	Differenz	t _R	Differenz	
1	α-HMET	8,53	8,47	-0,06	8,47	-0,06	8,64	0,11	
2	DMOLA	9,97	9,90	-0,07	9,94	-0,03	10,33	0,37	
3	OLA	10,59	10,48	-0,11	10,61	0,02	11,16	0,57	
4	TIM	19,01	18,93	-0,09	18,90	-0,11	19,20	0,18	
5	MET	19,70	19,61	-0,09	19,59	-0,11	19,90	0,20	
6	DIPRO	24,29	24,20	-0,09	24,18	-0,11	24,45	0,16	
7	BIS	25,36	25,27	-0,09	25,24	-0,12	25,55	0,18	
8	DMCLO	27,38	27,07	-0,31	27,57	0,19	28,25	0,87	
9	PRO	29,03	28,94	-0,09	28,91	-0,12	29,23	0,20	
10	CLO	29,55	29,29	-0,26	29,66	0,10	30,24	0,69	
11	DAQUE	29,89	29,67	-0,22	29,94	0,05	30,47	0,58	
12	4-HCAR	30,53	30,44	-0,09	30,41	-0,12	30,73	0,20	
13	QUE	31,47	31,31	-0,16	31,44	-0,02	31,89	0,42	
14	CAR	36,39	36,32	-0,07	36,24	-0,15	36,61	0,22	
15	NEB	38,46	38,39	-0,07	38,34	-0,12	38,65	0,19	

Fettgedruckt: Wirkstoffe, deren Retentionszeiten vom pH-Wert abhängig sind.

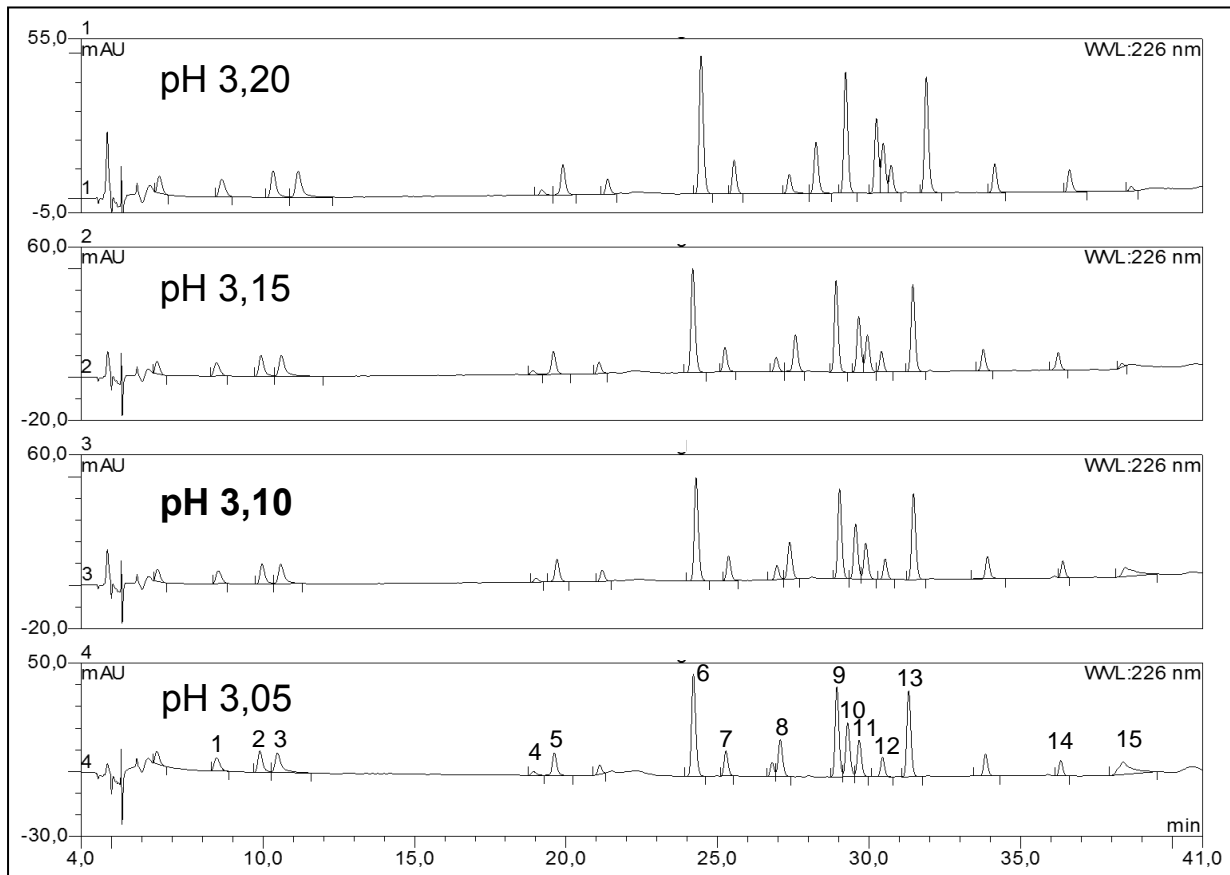


Abb. 16 Chromatogramme bei unterschiedlichem pH-Wert

Tab. 35 Veränderung der Säulenofentemperatur

Nr.	Analyt	Säulenofentemperatur (+/-10%)				
		30°C	27°C		33°C	
		t _R	t _R	Differenz	t _R	Differenz
1	α-HMET	8,16	8,26	0,10	8,12	-0,04
2	DMOLA	9,39	9,70	0,31	9,23	-0,16
3	OLA	9,91	10,19	0,28	9,81	-0,10
4	TIM	18,44	18,77	0,33	18,23	-0,21
5	MET	19,10	19,42	0,32	18,93	-0,17
6	DIPRO	23,73	24,25	0,53	23,36	-0,37
7	BIS	24,76	24,96	0,20	24,76	0,00
8	DMCLO	26,65	26,76	0,10	26,74	0,08
9	PRO	28,41	28,86	0,45	28,15	-0,25
10	CLO	28,84	29,02	0,18	28,86	0,01
11	DAQUE	29,19	29,42	0,23	29,17	-0,02
12	4-HCAR	29,93	30,50	0,57	29,56	-0,37
13	QUE	30,78	31,07	0,28	30,73	-0,05
14	CAR	35,69	36,21	0,52	35,43	-0,26
15	NEB	37,78	38,18	0,40	37,60	-0,18

Fettgedruckt: Wirkstoffe, deren Retentionszeiten von der Säulenofentemperatur abhängig sind.

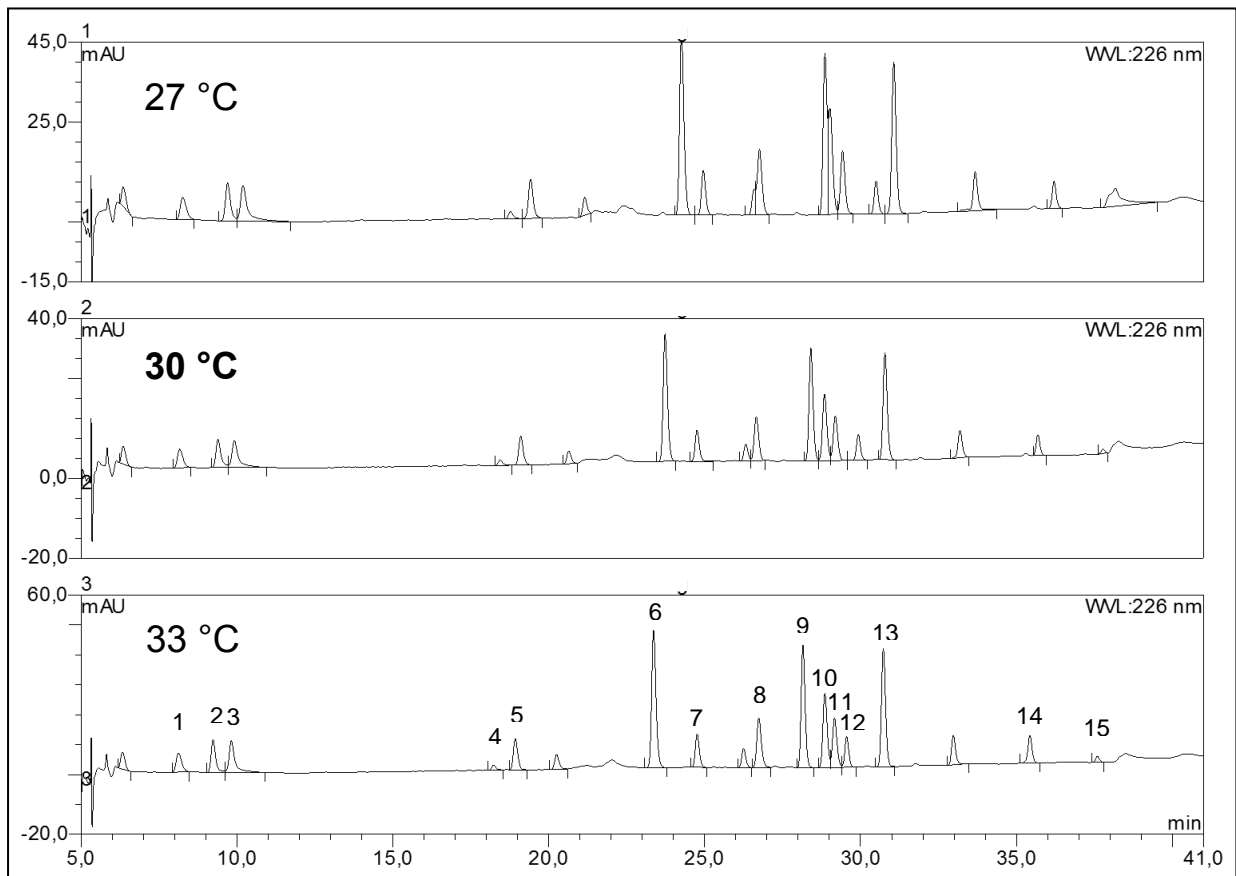


Abb. 17 Chromatogramme bei unterschiedlicher Säulenofentemperatur

Tab. 36 Veränderung der Fließgeschwindigkeit

Nr.	Analyt	Fließgeschwindigkeit (+/-10%)				
		1,0ml/min	0,9ml/min		1,1ml/min	
		t _R	t _R	Differenz	t _R	Differenz
1	α-HMET	8,16	8,89	0,73	7,64	-0,52
2	DMOLA	9,39	10,25	0,86	8,76	-0,63
3	OLA	9,91	10,85	0,93	9,23	-0,68
4	TIM	18,44	19,54	1,10	17,59	-0,85
5	MET	19,10	20,22	1,12	18,22	-0,88
6	DIPRO	23,73	24,84	1,11	22,84	-0,89
7	BIS	24,76	25,85	1,09	23,88	-0,87
8	DMCLO	26,65	27,78	1,13	25,73	-0,92
9	PRO	28,41	29,50	1,10	27,52	-0,89
10	CLO	28,84	29,98	1,13	27,93	-0,92
11	DAQUE	29,19	30,33	1,14	28,27	-0,93
12	4-HCAR	29,93	30,96	1,04	29,10	-0,83
13	QUE	30,78	31,88	1,10	29,89	-0,89
14	CAR	35,69	36,74	1,05	34,84	-0,85
15	NEB	37,78	38,81	1,03	36,94	-0,84

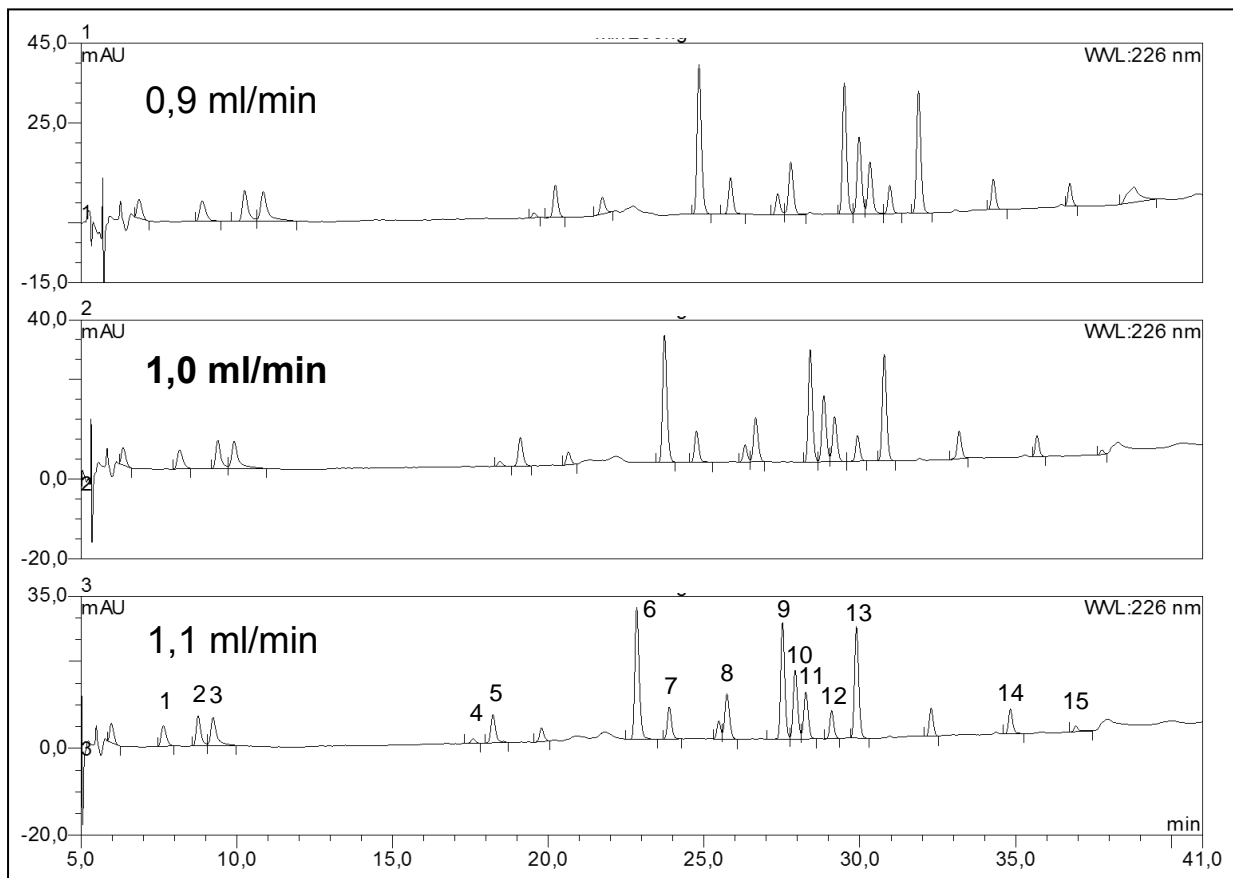


Abb. 18 Chromatogramme bei unterschiedlicher Fließgeschwindigkeit

Tab. 37 Veränderung des MeOH-Anteils von Fließmittel A

Nr.	Analyt	MeOH-Gehalt (+/-10%)				
		10%	9%		11%	
		t _R	t _R	Differenz	t _R	Differenz
1	α-HMET	8,16	8,64	0,48	7,95	-0,21
2	DMOLA	9,39	10,17	0,78	9,06	-0,32
3	OLA	9,91	10,81	0,90	9,56	-0,35
4	TIM	18,44	19,11	0,67	18,29	-0,15
5	MET	19,10	19,81	0,71	18,79	-0,31
6	DIPRO	23,73	24,32	0,59	23,47	-0,26
7	BIS	24,76	25,34	0,59	24,52	-0,23
8	DMCLO	26,65	27,32	0,67	26,46	-0,20
9	PRO	28,41	28,99	0,58	28,19	-0,22
10	CLO	28,84	29,48	0,64	28,66	-0,18
11	DAQUE	29,19	29,80	0,61	29,02	-0,17
12	4-HCAR	29,93	30,55	0,62	29,69	-0,24
13	QUE	30,78	31,37	0,59	30,61	-0,17
14	CAR	35,69	36,26	0,57	35,51	-0,18
15	NEB	37,78	38,25	0,47	37,65	-0,13

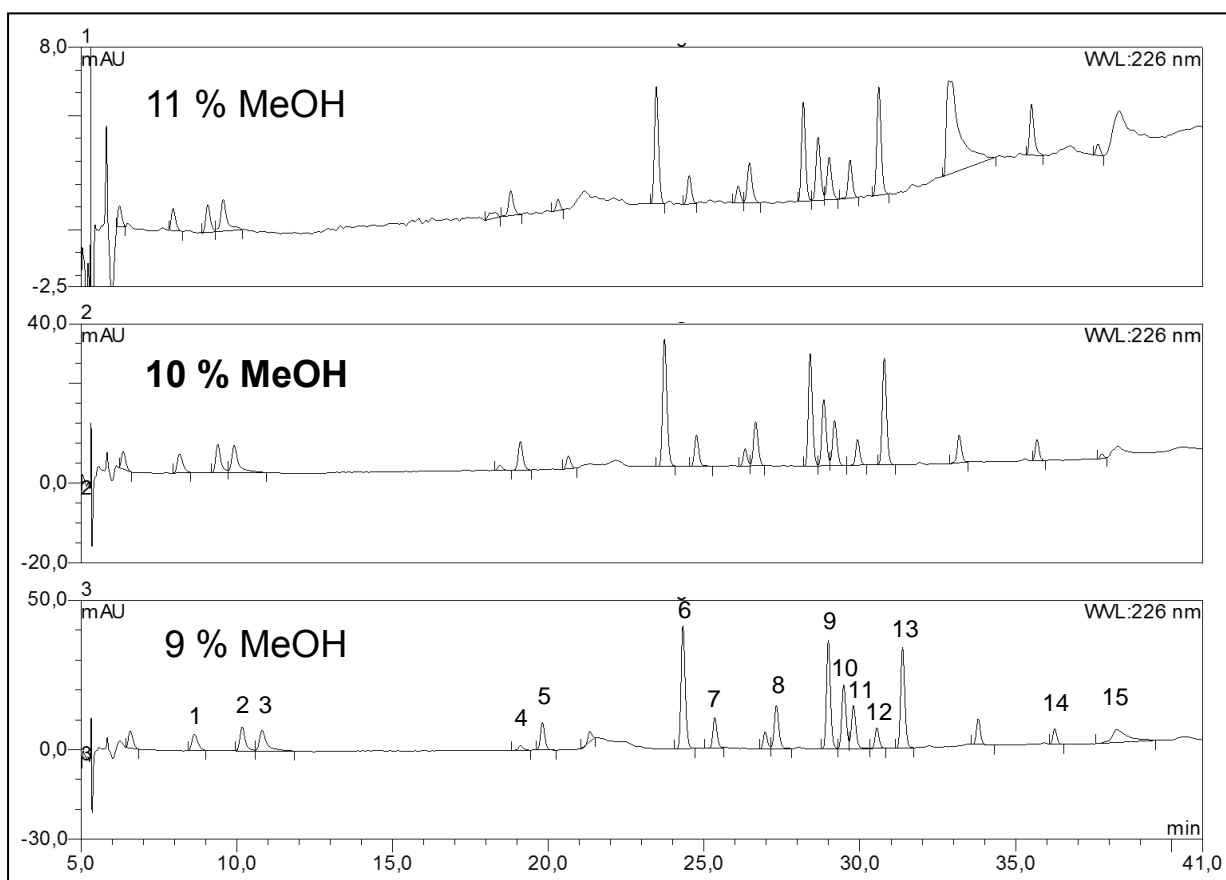


Abb. 19 Chromatogramme bei unterschiedlichem MeOH-Anteil

Tab. 38 Veränderung des ACN-Gradienten

Nr.	Analyt	ACN-Gradient (+/-25%)				
		8-40%	6-38%		10-42%	
		t _R	t _R	Differenz	t _R	Differenz
1	α-HMET	8,16	9,97	1,81	7,16	-1,00
2	DMOLA	9,39	11,85	2,47	8,00	-1,39
3	OLA	9,91	12,63	2,71	8,38	-1,53
4	TIM	18,44	20,79	2,35	16,19	-2,26
5	MET	19,10	21,41	2,31	16,93	-2,17
6	DIPRO	23,73	25,88	2,15	21,74	-1,99
7	BIS	24,76	26,95	2,20	22,72	-2,03
8	DMCLO	26,65	28,79	2,13	24,69	-1,96
9	PRO	28,41	30,54	2,13	26,44	-1,97
10	CLO	28,84	30,97	2,12	26,89	-1,95
11	DAQUE	29,19	31,31	2,12	27,24	-1,95
12	4-HCAR	29,93	32,04	2,11	27,97	-1,96
13	QUE	30,78	32,90	2,12	28,84	-1,94
14	CAR	35,69	37,78	2,09	33,76	-1,93
15	NEB	37,78	39,87	2,09	35,86	-1,92

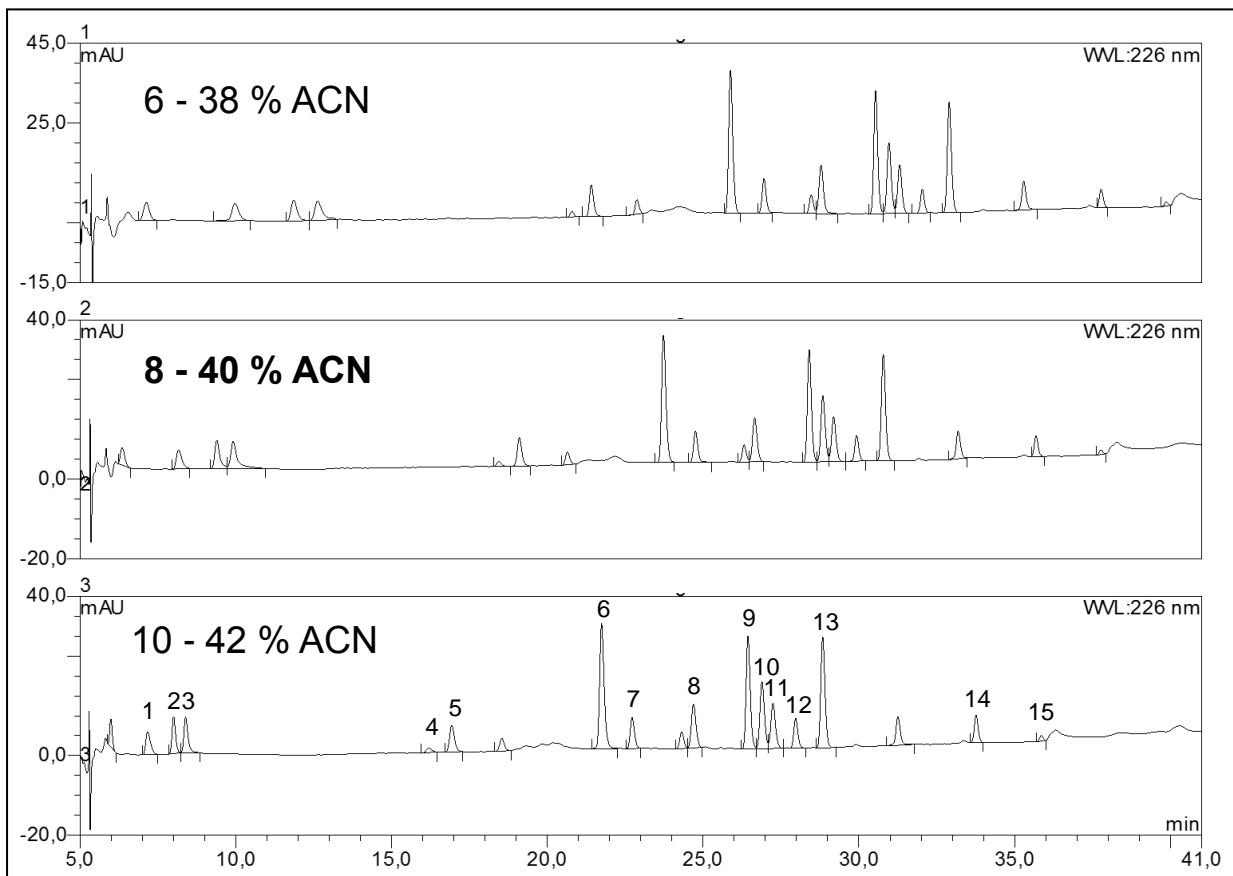


Abb. 20 Chromatogramme bei unterschiedlichem ACN-Gradienten

H Selektivität

Zum Nachweis der Selektivität wurden Interferenzmessungen der am häufigsten verordneten Medikamente bei Patienten, die OLA, CLO, QUE, BIS, MET, PRO, CAR und NEB erhielten, durchgeführt. Die getesteten Wirkstoffe wurden in Tab. 39 aufgeführt, geordnet nach zunehmender Retentionszeit.

Tab. 39 Retentionszeiten der Interferenzmessungen

Name	Retentionszeit	Wellenlänge			
		215	226	242	299
1,1-Dimethylbiguanid	6,36	x	x	x	x
Dihydrocodein_1	6,70	x	x	x	
Galantamin	6,75	x	x	x	x
α -Hydroxymetoprolol	8,17		x		
Dihydrocodein_2	8,60	x	x	x	
Sumatriptan	8,94	x	x	x	x
N-Desmethylolanzapin	9,44			x	
Olanzapin	10,05			x	
Pirenzepin	11,90	x	x	x	x
Amisulprid	15,45	x	x	x	x
Pipamperon	15,50	x	x	x	
Triamteren	16,13	x	x	x	x
O-Desmethylvenlafaxin	16,47	x	x	x	
Rivastigmin	16,84	x	x		
Timolol	18,22				x
Metoprolol	18,79		x		
Lamotrigin	18,93	x	x	x	x
Mirtazapin	20,54	x	x	x	x
Zopiclon_1	20,85	x	x	x	x
Omeprazol_1	22,11	x	x	x	x
Bupropion	22,98	x	x	x	x
N-Desisopropylpropranolol	23,34	x			
Zolpidem	23,86	x	x	x	x
Paliperidon	24,21	x	x	x	x
Venlafaxin	24,27	x	x	x	
Bisoprolol	24,30		x		
Melperon	24,33	x	x	x	(x)
Pantoprazol_1	25,45	x	x	x	x

Grau unterlegt: Analyt der entwickelten Messmethode

Fett: mögliche Interferenz mit den Analyten

x: Signal bei der entsprechenden Wellenlänge

(x): schwaches Signal

x: zur Auswertung des Analyten verwendete Wellenlänge

Tab. 39 Retentionszeiten der Interferenzmessungen (Fortsetzung)

Name	Retentionszeit	Wellenlänge			
		215	226	242	299
Risperidon	25,88	x	x	x	x
Omeprazol_2	26,40	x	x	x	x
N-Desmethylclozapin	26,46	x			
Buspiron	27,01	x	x	x	x
Omeprazol_3	27,50	x	x	x	x
Fluperlapin	27,55	x	x	x	x
Chlordiazepoxid	27,63	x	x	x	x
Propranolol	28,00	x			
Omeprazol_4	28,34	x	x	x	x
Clozapin	28,61	x			
N-Desalkylquetiapin	28,96	x			
Methylrisperidon	29,24	x	x	x	x
4'-Hydroxycarvedilol	29,69			x	
Pantoprazol_2	29,84	x	x	x	x
Flupentixol	29,95	x	x	x	
Quetiapin	30,47	x			
Oxcarbazepin	30,56	x	x	x	x
Clozapin-N-oxid	30,57	x	x	x	x
Mianserin	30,68	x	x	x	x
Nordoxepin	31,06	x	x	x	x
Ziprasidon	31,14	x	x	x	x
Es-/Citalopram	31,44	x	x	x	
Bromazepam	31,75	x	x	x	x
Doxepin	31,80	x	x	x	x
Reboxetin	31,84	x	x	x	
Pantoprazol_3	32,55	x	x	x	x
Haloperidol	32,57	x	x	x	
Promethazin	33,32	x	x	x	x
Biperiden	33,33	x			
Pantoprazol_4	34,02	x	x	x	x
Cisaprid	34,03	x	x	x	x
Perazin	34,26	x	x	x	x
Desipramin	34,30	x	x	x	x
Paroxetin	34,53	x	x	x	x
Imipramin	34,82	x	x	x	x
Fluvoxamin	34,83	x	x	x	

Grau unterlegt: Analyt der entwickelten Messmethode
 Fett: mögliche Interferenz mit den Analyten
 x: Signal bei der entsprechenden Wellenlänge
 (x): schwaches Signal
 x: zur Auswertung des Analyten verwendete Wellenlänge

Tab. 39 Retentionszeiten der Interferenzmessungen (Fortsetzung)

Name	Retentionszeit	Wellenlänge			
		215	226	242	299
Carbamazepin	35,14	x	x	x	x
Nortriptylin	35,21	x	x	x	
Carvedilol	35,32			x	
Amlodipin	35,64	x	x	x	
Dehydroaripiprazol	35,73	x	x	x	(x)
Maprotilin	35,85	x	x	x	
Duloxetin	35,86	x	x	x	x
Phenytoin	35,94	x	x	x	
Theobromin	36,08	x	x	x	(x)
Zopiclon_2	36,29	x	x	x	x
Levomepromazin	36,35	x	x	x	x
Trimipramin	36,76	x	x	x	x
Aripiprazol	37,19	x	x	x	(x)
Nebivolol	37,34	x			
Fluoxetin	37,36	x	x	x	
Amitriptylin/-oxid	37,43	x	x	x	
Oxazepam	37,97	x	x	x	x
Sertralin	38,06	x	x	x	
Norclomipramin	38,53	x	x	x	x
Nitrazepam	38,54	x	x	x	x
Triamcinolonacetonid	38,89	x	x	x	(x)
Lorazepam	38,94	x	x	x	x
Clomipramin	39,23	x	x	x	x
Zuclopenthixol	39,27	x	x	x	x
Chlorprothixen	39,53	x	x	x	x
Alprazolam	39,63	x	x	x	x
Agomelatin	40,10	x	x	x	(x)
Triazolam	40,11	x	x	x	x

Grau unterlegt: Analyt der entwickelten Messmethode
 Fett: mögliche Interferenz mit den Analyten
 x: Signal bei der entsprechenden Wellenlänge
 (x): schwaches Signal
 x: zur Auswertung des Analyten verwendete Wellenlänge

Manche Substanzen zeigten mehrere Peaks. Bei Dihydrocodein und Zopiclon wurden zwei Peaks bestimmt, Omeprazol und Pantoprazol zeigten jeweils vier Signale. Bei Wirkstoffen mit einer Differenz < 0,30 min zwischen den Retentionszeiten der getesteten Substanzen und den Retentionszeiten der Analyten wurde eine mögliche Interferenz in Betracht gezogen. Von einer eventuellen Peaküberlagerung sind betroffen: Lamotrigin mit MET, Venlafaxin, Paliperidon und Melperon mit BIS, Omeprazol (Peak 2) mit DMCLD, Omeprazol (Peak 4) mit

CLO, Pantoprazol (Peak 2) mit 4-HCAR, Oxcarbamazepin, Clozapin-N-oxid und Mianserin mit QUE, Carbamazepin, Nortriptylin mit CAR und Aripiprazol, Fluoxetin, Amitriptylin mit NEB.

Die in Tab. 40 aufgeführten Substanzen konnten mit der entwickelten Methode nicht nachgewiesen werden. Daher ist davon auszugehen, dass in Kombination mit diesen Wirkstoffen keine Interferenz ausgeht.

Tab. 40 Nicht nachweisbare (n.n.) Substanzen der Interferenzmessung

Name	Retentionszeit	Wellenlänge			
		215	226	242	299
Acetylcystein	n.n.				
Acetylsalicylsäure	n.n.				
Amantadin	n.n.				
Ascorbinsäure	n.n.				
Clobazam	n.n.				
Diazepam	n.n.				
Diclofenac	n.n.				
Enalapril	n.n.				
Estradiol	n.n.				
Fluphenazin	n.n.				
Fluspirilen	n.n.				
Furosemid	n.n.				
Gabapentin	n.n.				
Glimepirid	n.n.				
Hydrochlorothiazid	n.n.				
Koffein	n.n.				
Lactulose	n.n.				
Levodopa	n.n.				
Levothyroxin	n.n.				
Memantin	n.n.				
Nateglinid	n.n.				
Natriumvalproat	n.n.				
Nordiazepam	n.n.				
Pregabalin	n.n.				
Primidon	n.n.				
Ramipril	n.n.				
Sultiam	n.n.				
Testosteron	n.n.				
Theophyllin	n.n.				
Topiramamat	n.n.				

4.1.4 Alternative Methoden

4.1.4.1 Ersatzmethode bei Überlagerungen

Es wurde eine Ersatzmethode entwickelt, die im Falle von Interferenzen zwischen Lamotrigin mit MET, Venlafaxin, Paliperidon und Melperon mit BIS, Pantoprazol (Peak 2) mit 4-HCAR, Oxcarbamazepin, Clozapin-N-oxid und Mianserin mit QUE, Carbamazepin, Nortriptylin mit CAR und Aripiprazol, Fluoxetin, Amitriptylin mit NEB (siehe Kapitel 4.1.3H) als alternative Messmethode verwendet werden kann. Die Messung wurde unter ähnlichen Bedingungen durchgeführt. Es wurde ebenfalls eine Merck LiChrospher RP-4 ADS Vorreinigungssäule und 8 % ACN in Wasser als Fließmittel der Vorreinigungssäule verwendet. Der Gradient bestand aus ACN und 10 % Methanol in Kaliumdihydrogenphosphat-Puffer, allerdings mit pH 3,2 anstatt pH 3,1. Bis Minute 10 wurde isokratisch mit einem ACN-Anteil von 10 % gemessen. Danach wurde der ACN-Anteil um 0,5 % pro Minute bis 37,5 % ACN am Ende der Messung nach 65 min gesteigert. Als Analysensäule wurde eine Phenomenex Synergi™ Hydro-RP 80 A 250 x 4,60 mm (4 µm) verwendet, gekoppelt mit einer Phenomenex Security Guard AQ C18 4 x 3.0 mm Vorsäule.

In Abb. 21 ist ein Chromatogramm der beschriebenen Methode als alternative Messmethode bei Interferenzen dargestellt.

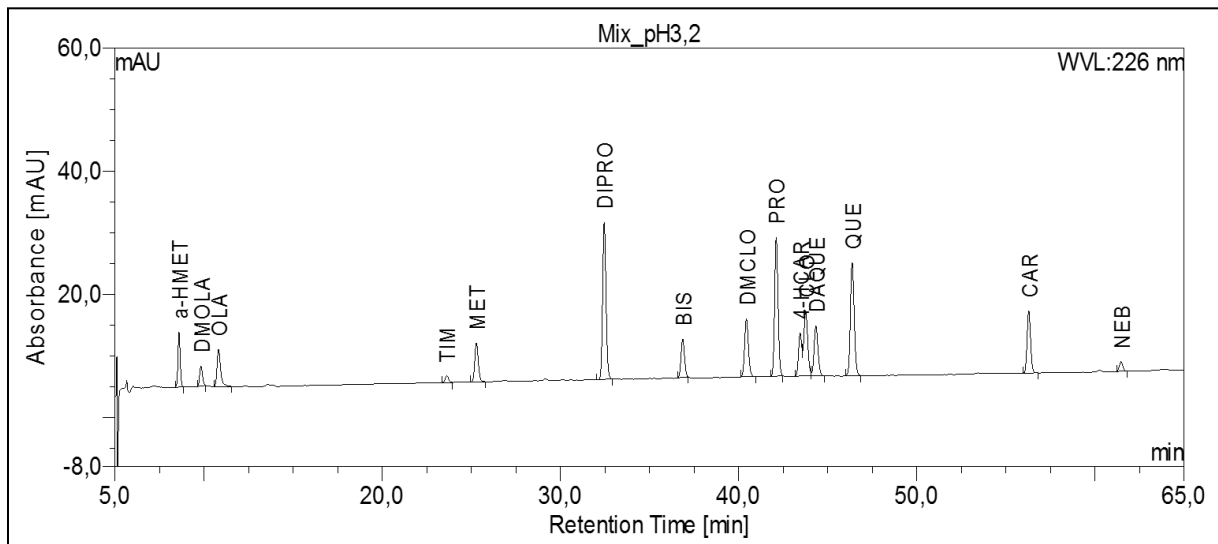


Abb. 21 Chromatogramm der Alternativmethode mit einer Synergi™ Hydro-RP Analysensäule

Die Retentionszeiten der Analyte, die mit der Alternativmethode bestimmt wurden, sind in Tab. 41 aufgeführt. Die Reihenfolge, in der die Substanzen eluiert werden, ist fast identisch mit der Reihenfolge in der validierten Methode. 4-HCAR wird hier allerdings vor CLO und DAQUE eluiert anstatt nach DAQUE (siehe Tab. 27).

Tab. 41 Retentionszeiten der Analyte

Analyt	Retentionszeit (min)	Analyt	Retentionszeit (min)
α-HMET	8,59	PRO	42,11
DMOLA	9,83	4-HCAR	43,45
OLA	10,81	CLO	43,76
TIM	23,61	DAQUE	44,34
MET	25,29	QUE	46,37
DIPRO	32,46	CAR	56,28
BIS	36,86	NEB	61,46
DMCLO	40,44		

Unter den beschriebenen Messbedingungen war eine Trennung der sich überlagernden Substanzen möglich (siehe Tab. 42 und Tab. 43). Die einzige Substanz, bei der es noch zu einer Interferenz kam war Omeprazol. Hier überlagerte Peak 2 mit DMCLO und Peak 3 mit DAQUE (siehe Tab. 43).

Tab. 42 Retentionszeiten der Analyte und Interferenzsubstanzen unter Verwendung der Ersatz-Messmethode

Name	Retentionszeit	Wellenlänge			
		215	226	242	299
α-Hydroxymetoprolol	8,59	x	x		
N-Desmethyloanzapin	9,83	x	x	x	x
Olanzapin	10,81	x	x	x	x
Timolol	23,61	x	x		x
Lamotrigin	24,12	x	x	x	x
Metoprolol	25,29	x	x		
N-Desisopropylpropranolol	32,46	x	x	x	x
Venlafaxin	35,59	x	x	x	
Bisoprolol	36,86	x	x	(x)	
N-Desmethyloanzapin	40,44	x	x	x	x
Propranolol	42,11	x	x	x	x
4'-Hydroxycarvedilol	44,34	x	x	x	x
Clozapin	43,76	x	x	x	x
N-Desalkylquetiapin	43,45	x	x	x	
Quetiapin	46,37	x	x	x	x
Mianserin	46,83	x	x	x	
Carbamazepin	52,67	x	x	x	x
Carvedilol	56,28	x	x	x	(x)
Nortriptylin	58,46	x	x	x	
Aripiprazol	60,81	x	x		
Nebivolol	61,46	x	x		
Fluoxetin	62,89	x	x	x	
Amitriptylin/-oxid	62,98	x	x	x	
Oxcarbazepin	n.n.				

Grau unterlegt: Analyt der entwickelten Messmethode
 Fett: mögliche Interferenz mit den Analyten
 x: Signal bei der entsprechenden Wellenlänge
 (x): schwaches Signal
 x: zur Auswertung des Analyten verwendete Wellenlänge

Tab. 43 Retentionszeiten der Analyte und Interferenzsubstanzen unter Verwendung der Ersatz-Messmethode

Name	Retentionszeit	Wellenlänge			
		215	226	242	299
α-Hydroxymetoprolol	8,23	x	x		
N-Desmethyloanzapin	9,36	x	x	x	x
Olanzapin	10,29	x	x	x	x
Timolol	22,67	x	x		x
Metoprolol	24,30	x	x		
Pantoprazol_1	31,10	x			
N-Desisopropylpropranolol	31,40	x	x	x	x
Omeprazol_1	31,80	x			
Paliperidon	32,28	x	x	x	x
Melperon	32,91	x	x	x	x
Pantoprazol_2	35,17	x	x	x	x
Bisoprolol	35,88	x	x	(x)	
N-Desmethyloanzapin	39,64	x	x	x	x
Omeprazol_2	39,77	x	x	x	x
Propranolol	41,06	x	x	x	x
4'-Hydroxycarvedilol	42,44	x	x	x	x
Clozapin	42,84	x	x	x	x
N-Desalkylquetiapin	43,40	x	x	x	
Omeprazol_3	43,65	x	x	x	x
Quetiapin	45,42	x	x	x	x
Clozapin-N-oxid	47,13	x	x	x	x
Omeprazol_4	50,07	x	x	x	x
Pantoprazol_3	53,45	x	x	x	x
Carvedilol	55,23	x	x	x	(x)
Nebivolol	60,54	x	x		

Grau unterlegt: Analyt der entwickelten Messmethode
 Fett: mögliche Interferenz mit den Analyten
 x: Signal bei der entsprechenden Wellenlänge
 (x): schwaches Signal
 x: zur Auswertung des Analyten verwendete Wellenlänge

4.1.4.2 Bestimmung von Atenolol

Aufgrund der geringeren Lipophilie im Vergleich zu den anderen Beta-Blockern wurde ATE mit einer separaten Methode bestimmt. Die chromatographischen Bedingungen sind nahezu identisch mit jenen der entwickelten Methode (siehe Tab. 26). Es wurde allerdings der organische Anteil in dem Fließmittel der Vorreinigungssäule und dem der Analysensäule reduziert. Als Eluent der Vorreinigungssäule wurde ein Gemisch aus 4 % ACN und Wasser verwendet. Die Fließmittel der Analysensäule blieben gleich, nur der Gradient wurde variiert. Bis Minute 8 lief die Messung isokratisch mit einem ACN-Anteil von 4 %. Danach wurde der ACN-Gehalt um 1 % pro Minute erhöht, bis auf 8 % am Ende der Messung von 12 min. Die Retentionszeit betrug 8,38 min. In Abb. 22 ist das Chromatogramm von ATE zu sehen.

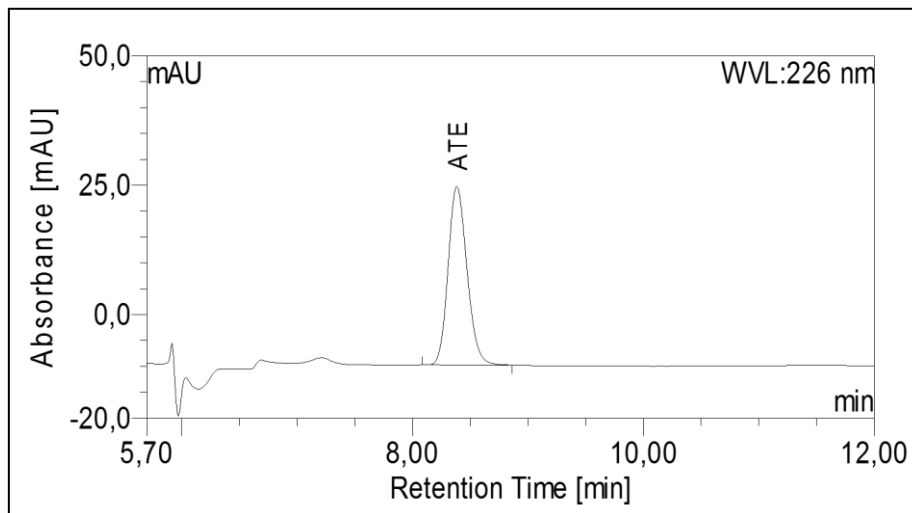


Abb. 22 Chromatogramm von ATE

4.1.4.3 Abwandlungen der entwickelten Methode

Es wurde von der validierten Methode auch eine gekürzte Version entwickelt. Durch eine Erhöhung des organischen Anteils im Fließmittel wurde die jeweilige Retentionszeit der Analyte verkürzt und dadurch eine kürzere Analysendauer ermöglicht. Bis Minute 8 wurde isokratisch mit einem ACN-Anteil von 20 % gemessen. Danach wurde der ACN-Gehalt um 1 % pro Minute erhöht, bis auf 39 % am Ende der Messung von 27 min. Die Verwendung dieser Variante ist nur möglich, wenn die Substanzen α -HMET, DMOLA und OLA nicht bestimmt werden müssen. Abb. 23 stellt das Chromatogramm der kurzen Messmethode dar. Die gekürzte Methode wurde vor allem zur Bestimmung der Konzentrationen aus den enzymkinetischen Experimenten verwendet, weshalb in diesem Chromatogramm keine Peaks der Metaboliten und von BIS abgebildet sind.

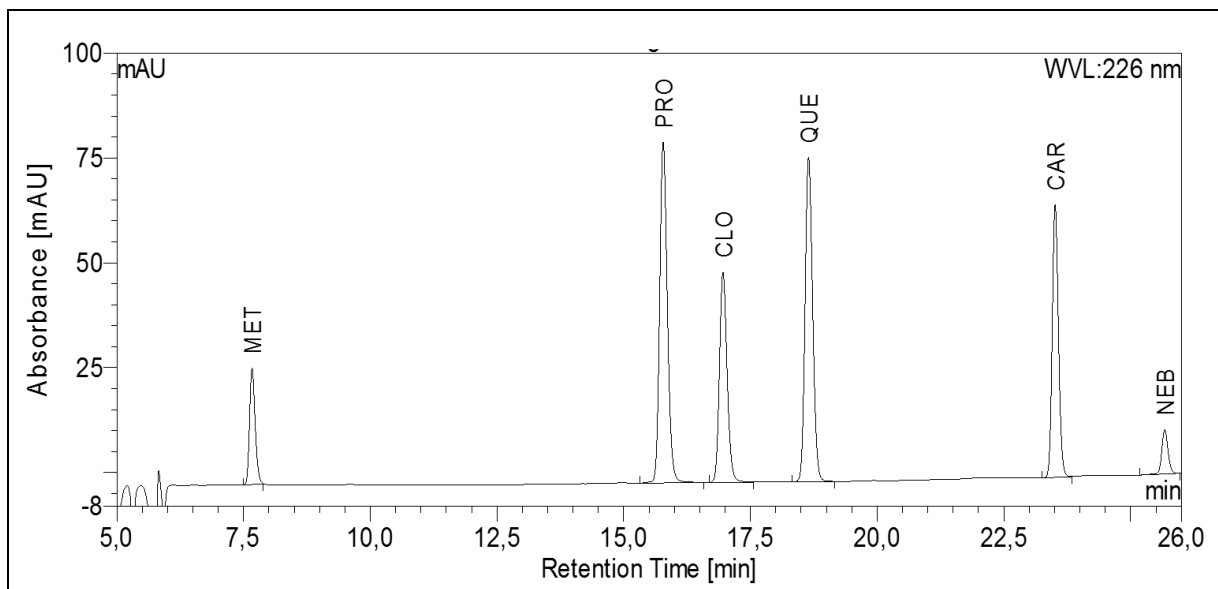


Abb. 23 Chromatogramm der kurzen Variante

4.2 Enzymkinetische Versuche

4.2.1 Vergleich des Abbaus über die verschiedenen Isoenzyme

4.2.1.1 Metabolisierung der Antipsychotika CLO und QUE über die verschiedenen Isoenzyme

In Abb. 24 wird der Abbau von CLO (A) und QUE (B) über die bei KONBEST® angegebenen Stoffwechselwege verglichen.

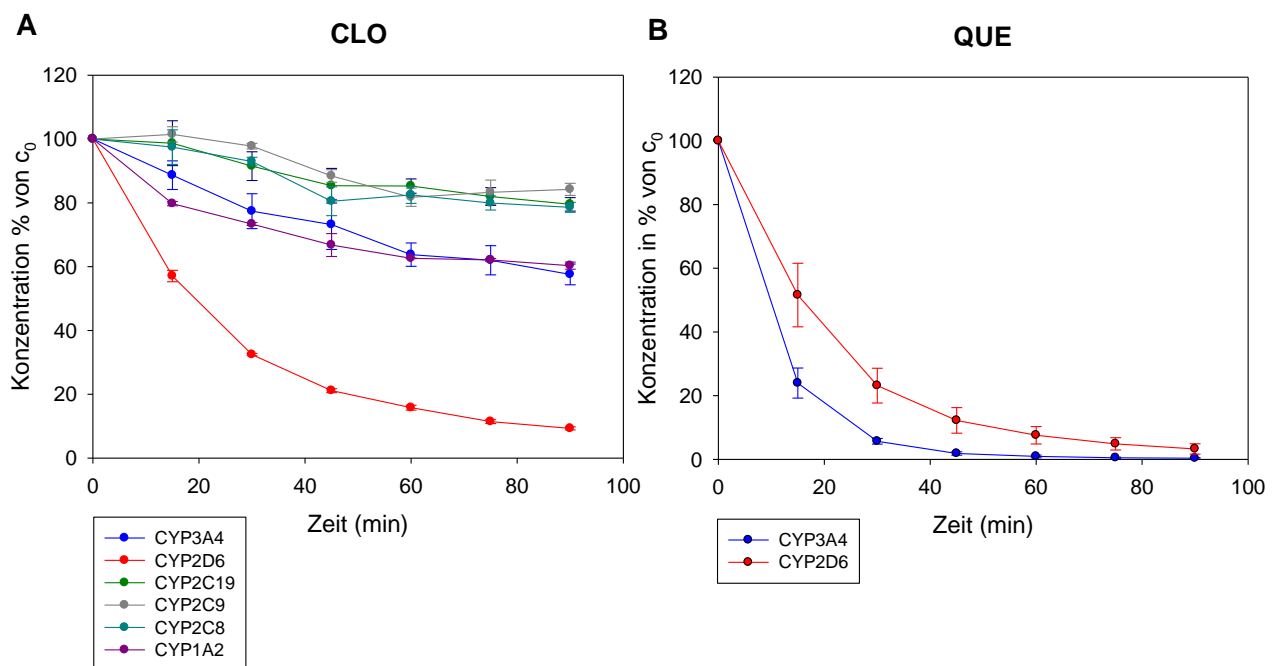


Abb. 24 Darstellung des Abbaus von CLO (A) und QUE (B) über einzelne CYP-Isoenzyme

10 μM CLO (A) wurde jeweils mit CYP3A4, -2D6, -2C19, -2C9, -2C8 und -1A2 (0,025 pmol/ml) inkubiert. 10 μM QUE (B) wurde jeweils mit CYP3A4 und CYP2D6 (0,025 pmol/ml) inkubiert. Nach 0, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 μl des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μl vorgelegtem eisgekühlten ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μl des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben. Die Probenanzahl betrug $n = 3$.

CLO wurde über CYP2D6 am stärksten verstoffwechselt. Nach 90 min waren noch 9 % ($\pm 0,5$ %) der Ausgangskonzentration vorhanden. Über CYP3A4 und CYP1A2 lagen nach 90 min 58 % ($\pm 3,3$ %) und 60 % ($\pm 1,1$ %) vor. Über CYP2C19, CYP2C9 und CYP2C8 wurde CLO nach 90 min zu 20 % ($\pm 2,1$ %), 16 % ($\pm 1,9$ %) und 21 % ($\pm 1,6$ %) metabolisiert. QUE wurde über CYP3A4 nach 60 min fast vollständig abgebaut. Über CYP2D6 waren nach 90 min noch 3 % ($\pm 1,6$ %) vorhanden.

4.2.1.2 Metabolisierung der β -AR-Antagonisten MET, PRO, CAR und NEB über die verschiedenen Isoenzyme

Abb. 25 zeigt den Vergleich des Abbaus von MET (A), PRO (B), CAR (C) und NEB (D) über die bei KONBEST® jeweils angegebenen Isoenzyme.

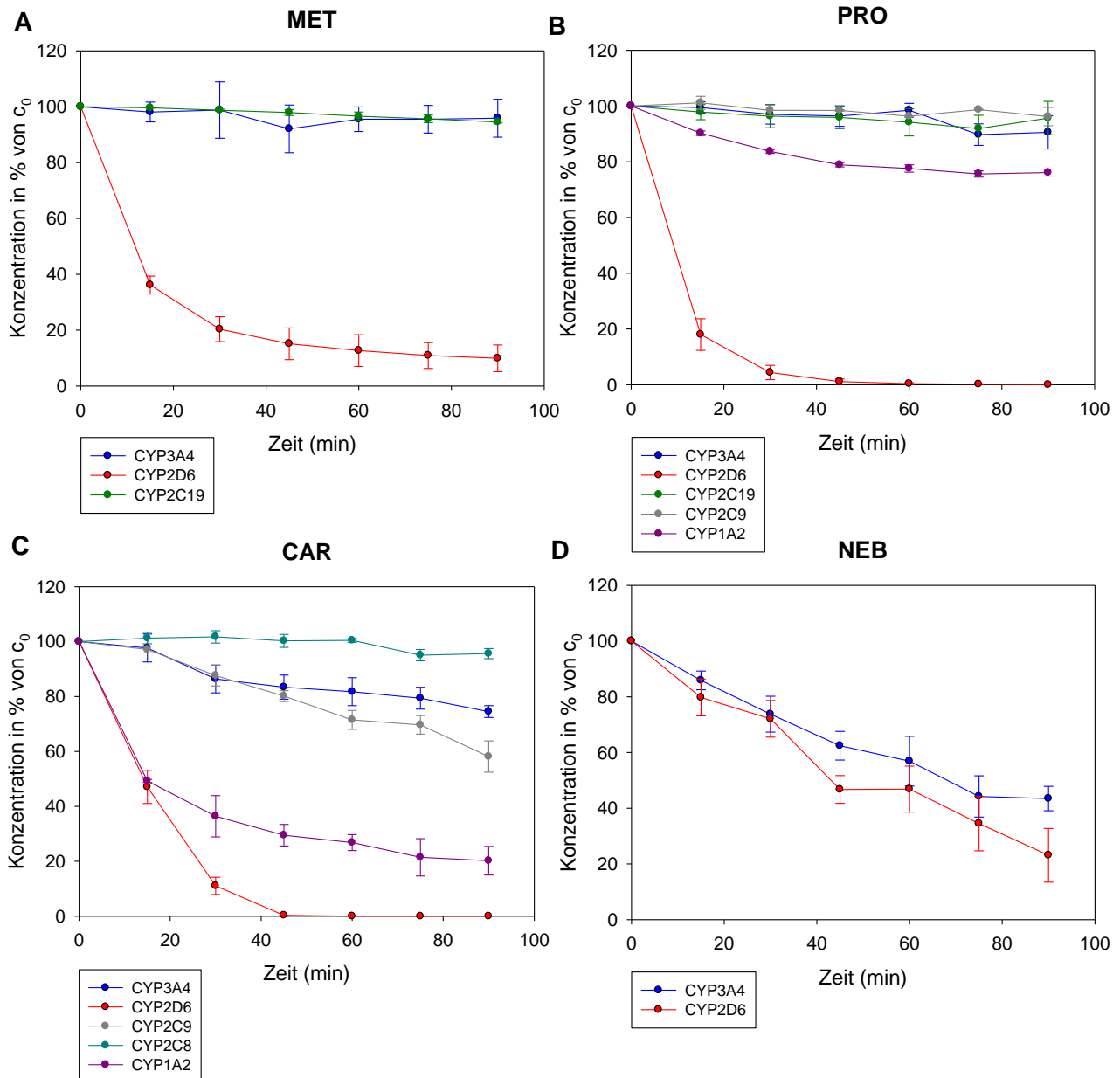


Abb. 25 Darstellung des Abbaus von MET (A), PRO (B), CAR (C) und NEB (D) über einzelne CYP-Isoenzyme

10 μ M MET (A) wurde jeweils mit CYP3A4, -2D6 und -2C19 (0,025 pmol/ml), 10 μ M PRO (B) wurde jeweils mit CYP3A4, -2D6 und -1A2 (0,025 pmol/ml), 10 μ M CAR wurde jeweils mit CYP3A4, -2D6, -2C9, -2C8 und -1A2 (0,025 pmol/ml) und 10 μ M NEB wurde jeweils mit CYP CYP3A4 und -2D6 (0,025 pmol/ml) inkubiert. Nach 0, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 μ l des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μ l vorgelegtem eisgekühltem ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μ l des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben. Die Probenanzahl betrug n = 3, mit Ausnahme von NEB CYP3A4 mit n = 6.

MET wurde im größten Ausmaß über CYP2D6 metabolisiert. Nach 90 min waren noch 10 % ($\pm 4,8$ %) der Ausgangskonzentration vorhanden. CYP2C19 und CYP3A4 spielten in der Verstoffwechslung von MET nur eine untergeordnete Rolle. Nach 90 min wurden über CYP2C19 und CYP3A4 nur 5 % ($\pm 0,3$ %) bzw. 4 % ($\pm 6,8$ %) abgebaut. Die Metabolisierung von PRO erfolgte am schnellsten über CYP2D6. Nach 45 min waren bereits 99 % ($\pm 1,0$ %) der ursprünglichen Konzentration von PRO abgebaut. Über CYP1A2 waren nach 90 min noch 76 % ($\pm 1,3$ %) der Ausgangskonzentration vorhanden. CYP2C9, -2C19 und -3A4 zeigten nur einen geringen Einfluss auf den Abbau von PRO: Nach 90 min wurde von PRO über CYP2C9 4 % ($\pm 3,3$ %), über CYP2C19 ebenfalls 4 % ($\pm 6,0$ %) und über CYP3A4 9 % ($\pm 6,0$ %) metabolisiert. Auch bei CAR war die höchste Metabolisierungsrate über CYP2D6. Bereits nach 45 min konnte nur noch 0,3 % ($\pm 0,1$ %) der ursprünglichen CAR-Konzentration bestimmt werden. Über CYP1A2 waren nach 90 min noch 20 % ($\pm 5,2$ %) und über CYP2C9 noch 58 % ($\pm 5,7$ %) der Ausgangskonzentration vorhanden. Über CYP2C8 und CYP3A4 wurden nach 90 min 4 % ($\pm 1,8$ %) bzw. 25 % ($\pm 2,1$ %) metabolisiert. Bei NEB lagen nach 90 min über CYP2D6 noch 23 % ($\pm 9,6$ %) und über CYP3A4 noch 44 % ($\pm 4,4$ %) der ursprünglichen Konzentration vor.

4.2.2 Einfluss der β -Adrenozeptor-Antagonisten auf den Metabolismus der Antipsychotika

4.2.2.1 Bestimmung der pharmakokinetischen Interaktion mithilfe von HLM

Abb. 26 zeigt den Einfluss der β -AR-Antagonisten auf den Metabolismus der Antipsychotika. Hierfür wurden humane Leberzellmikrosomen (0,5 mg Protein/ml) mit OLA, CLO und QUE (10 μ M) allein (rote Kurve) und jeweils in Kombination mit MET, BIS, PRO, CAR und NEB (10 μ M) versetzt (siehe Tab. 20).

Abb. 26 A zeigt den Abbau von OLA. In geringem Ausmaß wurde OLA verstoffwechselt. Nach 90 min wurden 6 % ($\pm 7,2$ %) von OLA abgebaut. Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen dem Metabolismus von OLA alleine und in Kombination mit einem β -AR-Antagonisten beobachtet werden.

Der Metabolismus von CLO ist in Abb. 26 B dargestellt. Nach 90 min waren noch 65 % ($\pm 1,7$ %) an CLO vorhanden. In Kombination mit CAR blieben 87 % ($\pm 4,4$ %) von CLO übrig. Der Abbau von CLO wurde durch CAR um 34 % verringert. Der Unterschied zwischen den Konzentrationen von CLO alleine und von CLO in Kombination mit CAR war bei 15 min nicht statistisch signifikant. Ab 30 min war die Hemmung des CLO-Metabolismus statistisch signifikant mit $p < 0.05$ und bei 60 min und 90 min sogar mit $p < 0.01$. In Kombination mit BIS, MET, PRO und NEB war die Konzentration von CLO nach 90 min bei 61 % ($\pm 4,4$ %), 65 % ($\pm 3,2$ %), 69 % ($\pm 5,0$ %) und 71 % ($\pm 2,2$ %) von der Konzentration zum Zeitpunkt Null (c_0). Die vier β -AR-Antagonisten zeigten keinen statistisch signifikanten Einfluss auf den Metabolismus von CLO.

Abb. 26 C zeigt den Metabolismus von QUE. Nach ungefähr 20 min waren ca. 50 % von QUE verstoffwechselt. Nach 90 min blieben 6 % ($\pm 1,8$ %) von QUE übrig. In Kombination mit CAR waren noch 72 % ($\pm 2,1$ %) an QUE vorhanden. Durch CAR wurde die QUE-Konzentration 12-fach erhöht, mit einem statistisch signifikanten Unterschied ($p < 0.001$ zu jeder Zeit). In Kombination mit BIS, MET, PRO und NEB war die QUE-Konzentration nach 90 min bei 6 % ($\pm 0,9$ %), 7 % ($\pm 1,3$ %), 8 % ($\pm 1,8$ %) und 10 % ($\pm 1,1$ %). Es konnte kein statistisch signifikanter Einfluss auf den Metabolismus von QUE durch die vier Beta-Blocker beobachtet werden.

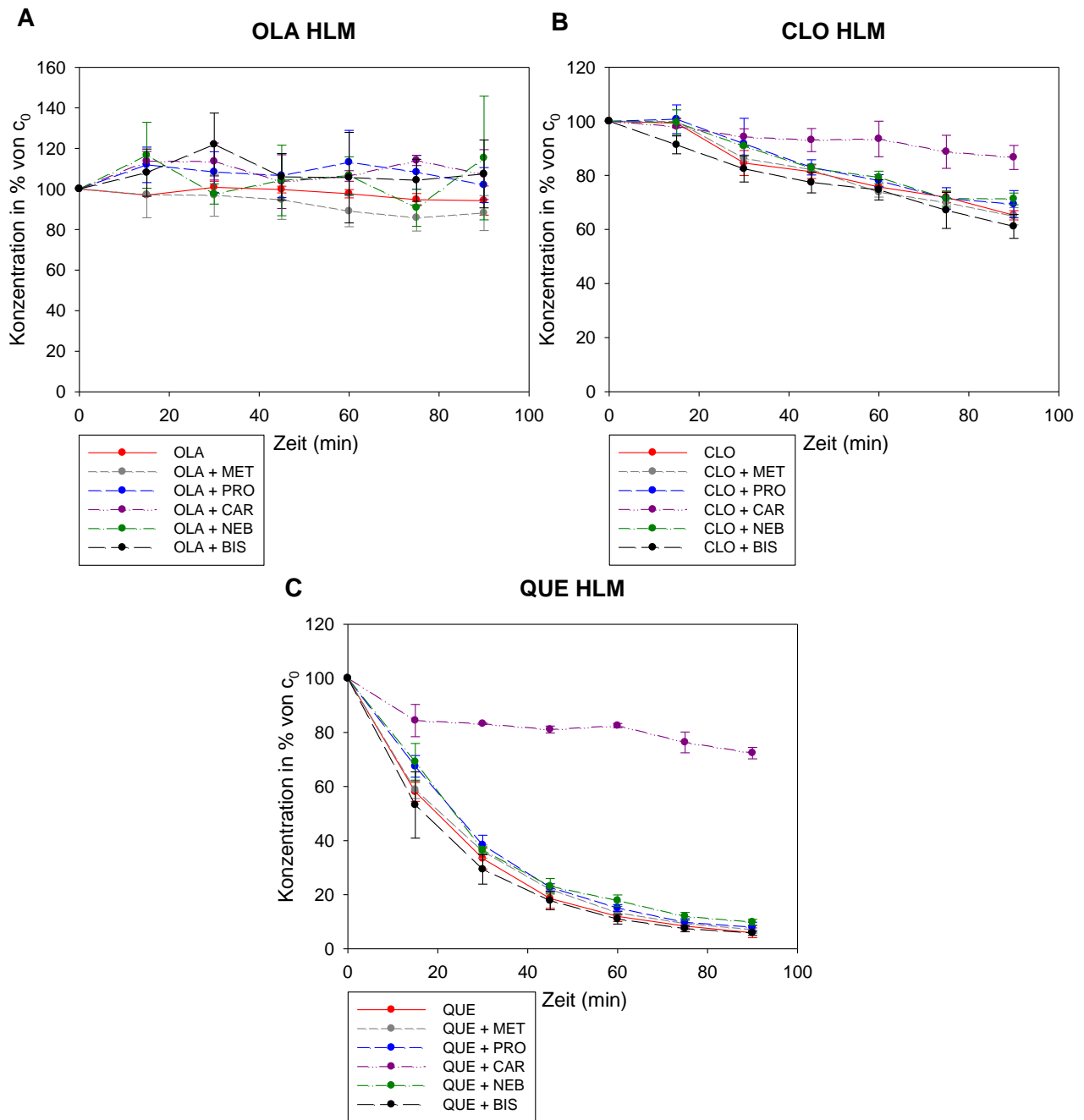


Abb. 26 Metabolismus von OLA (A), CLO (B) und QUE (C) jeweils alleine und in Kombination mit den β -AR-Antagonisten MET, PRO, CAR, NEB und BIS

0,5 mg/ml HLM wurde mit jeweils 10 μ M OLA (A), CLO (B) und QUE (C) alleine (rote Kurve) und in Kombination mit je 10 μ M MET, PRO, CAR, NEB und BIS inkubiert. Nach 0, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 μ l des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μ l vorgelegtem eisgekühlten ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μ l des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben. Die Probenanzahl betrug $n = 3$, außer bei QUE alleine mit $n = 6$.

Die Metabolismusrate von QUE fällt deutlich stärker aus als jene von CLO. Nach 90 min waren 6 % ($\pm 1,8$ %) von QUE vorhanden, im Vergleich zu 65 % ($\pm 1,7$ %) von CLO. OLA wurde mit dem geringsten Ausmaß abgebaut. 94 % ($\pm 7,2$ %) von OLA waren nach 90 min übrig.

In den Experimenten mit HLM zeigte nur CAR einen Hemmeffekt auf den Metabolismus von CLO und QUE (siehe Abb. 26 B und C). Der Abbau von OLA war nicht betroffen (siehe Abb. 26 A). Selbst in Kombination mit den zwei als CYP2D6-Inhibitoren bekannten β -AR-Antagonisten MET und PRO konnte kein verlangsamter Metabolismus der Antipsychotika beobachtet werden.

4.2.2.2 Einfluss der β -Adrenozeptor-Antagonisten auf den Metabolismus von CLO und QUE über rekombinantes CYP2D6

Abb. 27 zeigt den Einfluss der β -AR-Antagonisten auf den Metabolismus von CLO und QUE. Hierfür wurde rekombinantes CYP2D6 (0,025 pmol/ml) mit 10 μ M QUE und CLO allein (rote Kurve) und jeweils in Kombination mit 10 μ M MET, PRO, CAR und NEB versetzt (siehe Tab. 20). In den Experimenten mit rekombinantem CYP2D6 wird der Abbau von CLO und QUE durch die vier β -AR-Antagonisten MET, PRO, CAR und NEB verlangsamt.

Nach 90 min waren 9 % ($\pm 0,5$ %) von CLO vorhanden. In Kombination mit MET, PRO, CAR und NEB lag die CLO-Konzentration nach 90 min bei 16 % ($\pm 0,5$ %), 58 % ($\pm 5,2$ %), 64 % ($\pm 1,1$ %) und 86 % ($\pm 1,3$ %) der Ausgangskonzentration (c_0). Durch MET, PRO, CAR und NEB ergab sich eine 1,8-fache, 6,4-fache, 7,1-fache und 9,5-fache CLO-Konzentration. Der Unterschied zwischen CLO allein und CLO in Kombination mit MET war nach 15 min nicht statistisch signifikant. Nach 30 min bestand eine statistische Signifikanz von $p < 0,01$ und nach 60 min von $p < 0,001$. In Kombination mit PRO, CAR und NEB war die Hemmung des Metabolismus von CLO zu jeder Zeit statistisch signifikant ($p < 0,001$).

Nach 90 min waren 3 % ($\pm 1,6$ %) von QUE vorhanden. In Kombination mit MET, PRO, CAR und NEB befand sich die QUE-Konzentration nach 90 min bei 23 % ($\pm 6,7$ %), 69 % ($\pm 2,6$ %), 64 % ($\pm 12,0$ %) und 88 % ($\pm 1,7$ %) von der Konzentration zum Zeitpunkt Null (c_0). Durch MET, PRO, CAR und NEB ergab sich eine 7,7-fache, 23,0-fache, 21,3-fache und 29,3-fache QUE-Konzentration. Der Unterschied zwischen QUE alleine und QUE in Kombination mit MET war nach 15 min nicht statistisch signifikant. Nach 30 min bestand eine statistische Signifikanz mit $p < 0,01$ und nach 90 min mit $p < 0,001$. In Kombination mit PRO, CAR und NEB war die Hemmung des Abbaus von QUE nach 15 min statistisch signifikant mit $p < 0,01$ und ab 30 min mit $p < 0,001$. Über CYP2D6 wird QUE zu einem geringfügig

stärkeren Anteil metabolisiert als CLO. Nach 90 min lagen noch 3 % ($\pm 1,6$ %) der Ausgangskonzentration von QUE vor, im Vergleich zu 9 % ($\pm 0,5$ %) der CLO-Konzentration.

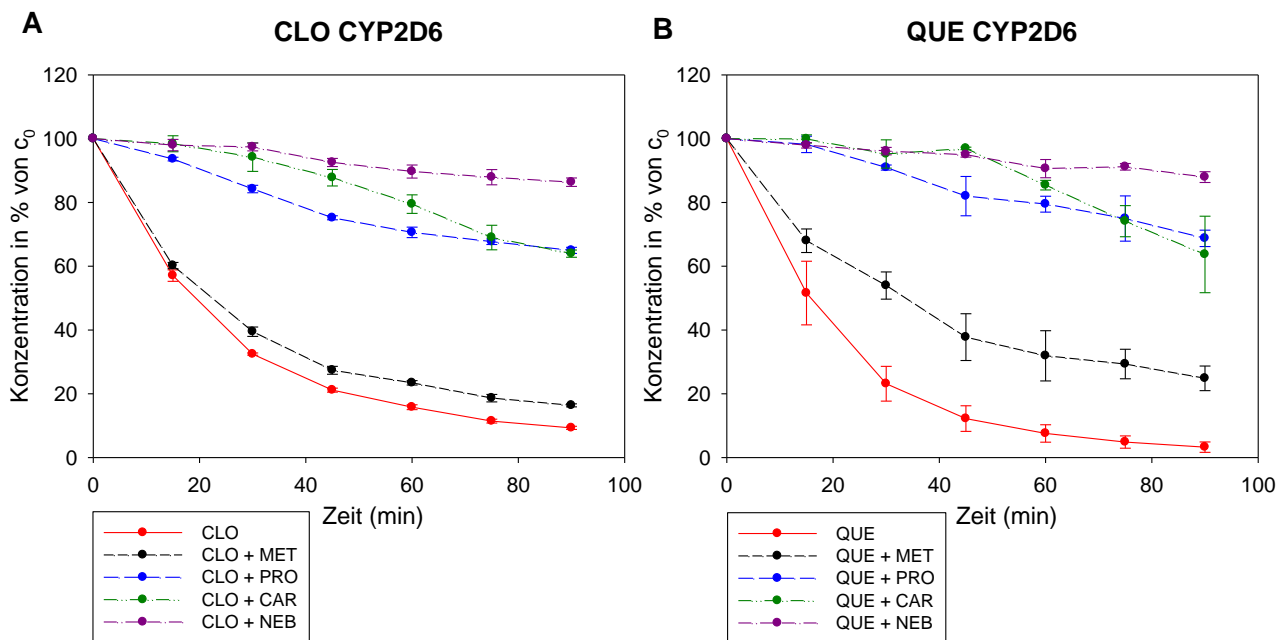


Abb. 27 Hemmung des Abbaus von CLO (A) und QUE (B) über CYP2D6 durch MET, PRO, CAR und NEB

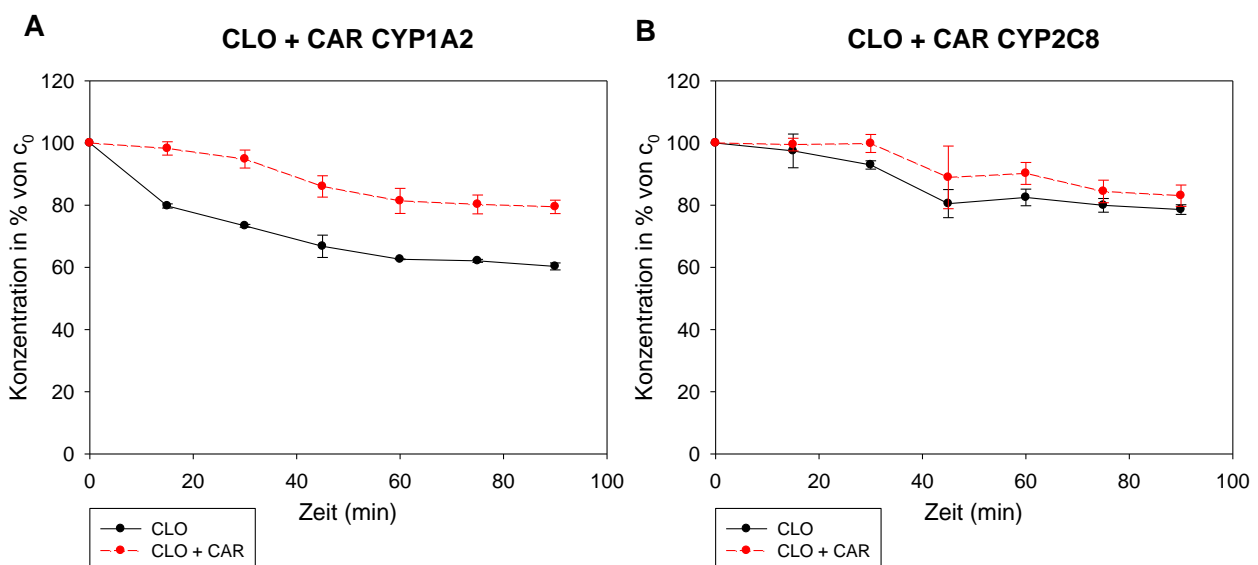
0,025 pmol/ml CYP2D6 wurden jeweils mit 10 μ M CLO (A) und QUE (B) alleine (rote Kurve) und in Kombination mit 10 μ M MET, PRO, CAR und NEB inkubiert. Nach 0, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 μ l des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μ l vorgelegtem eisgekühlten ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μ l des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben. Die Probenanzahl betrug $n = 3$, außer bei CLO + NEB mit $n = 4$.

In den Experimenten mit rekombinantem CYP2D6 wird der Abbau von CLO und QUE durch die vier β -AR-Antagonisten MET, PRO, CAR und NEB verlangsamt. MET scheint ein schwacher CYP2D6-Inhibitor zu sein, während NEB die stärksten Hemmeigenschaften zeigte.

4.2.2.3 Ermittlung der CYP-Isoformen, die durch CAR gehemmt werden

Zur Bestimmung der CYP-Isoenzyme, über welche der Abbau von CLO und QUE durch CAR gehemmt wird, wurden rekombinante CYP-Enzyme (0,025 pmol/ml) jeweils mit 10 μ M CLO und QUE alleine (schwarze Kurve) und in Kombination mit 10 μ M CAR versetzt (siehe Tab. 20).

Abb. 28 stellt den Einfluss von CAR auf den Abbau von CLO über die Isoenzyme CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 und CYP3A4 dar. Nach 90 min waren von CLO, metabolisiert über CYP1A2 60 % (\pm 1,1 %), über CYP2C8 79 % (\pm 1,6 %), über CYP2C9 84 % (\pm 1,9 %), über CYP2C19 80 % (\pm 2,1 %), über CYP2D6 9 % (\pm 0,5 %) und über CYP3A4 58 % (\pm 3,3 %) der Ausgangskonzentration noch vorhanden. In Kombination mit CAR blieb nach 90 min von CLO über CYP1A2 80 % (\pm 2,1 %), über CYP2C8 83 % (\pm 3,4 %), über CYP2C9 86 % (\pm 8,5 %), über CYP2C19 71 % (\pm 3,9 %), über CYP2D6 64 % (\pm 1,1 %) und über CYP3A4 96 % (\pm 5,6 %) der ursprünglichen Konzentration übrig. Während CAR den Abbau von CLO über CYP2C8 und CYP2C9 nicht beeinflusste, wurde der Abbau von CLO über CYP1A2, CYP2D6 und CYP3A4 durch CAR verlangsamt und führte zu einer 1,3-fachen, 7,1-fachen und 1,7-fachen CLO-Konzentration. Der Hemmeffekt war zu jedem Zeitpunkt statistisch signifikant. Über CYP1A2 war der Unterschied bei 45 min statistisch signifikant mit $p < 0,01$ und bei 60 min mit $p < 0,05$, bei den restlichen Probenentnahmen mit $p < 0,001$. Bei CYP3A4 bestand nach 15 min eine statistische Signifikanz mit $p < 0,05$, ab 30 min mit $p < 0,01$ und ab 45 min mit $p < 0,001$. Die Hemmung von CYP2D6 war zu jedem Zeitpunkt statistisch signifikant mit $p < 0,001$.



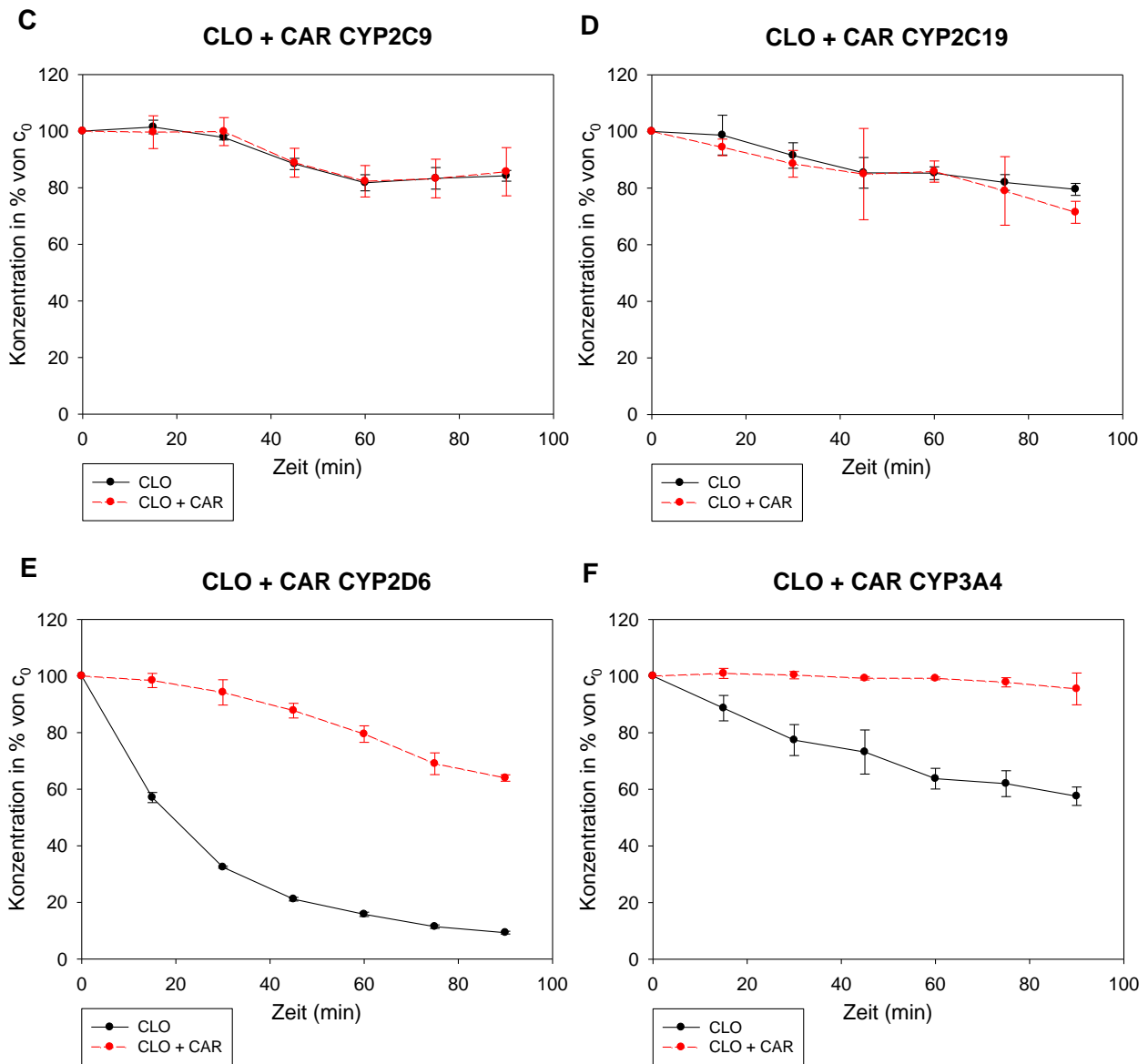


Abb. 28 Einfluss von CAR auf den Abbau von CLO über die Isoenzyme

0,025 pmol/ml CYP1A2 (A), CYP2C8 (B), CYP2C9 (C), CYP2C19 (D), CYP2D6 (E) und CYP3A4 (F) wurden jeweils mit 10 μ M CLO alleine und in Kombination mit 10 μ M CAR inkubiert. Nach 0, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 μ l des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μ l vorgelegtem eisgekühlten ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μ l des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben. Die Probenanzahl betrug $n = 3$.

Abb. 29 stellt den Hemmeffekt von CAR auf den Abbau von QUE über CYP2D6 und CYP3A4 dar. Wie bereits im Kapitel 4.2.2.2 beschrieben, war die Hemmung des Abbaus von QUE über CYP2D6 nach 15 min statistisch signifikant mit $p < 0,01$ und ab 30 min mit $p < 0,001$. Der Hemmeffekt von CAR auf den Abbau von QUE über CYP3A4 war zu jedem Zeitpunkt statistisch signifikant mit $p < 0,001$, außer bei 30 min mit einer statistischen Signifikanz von $p < 0,01$. Nach 90 min waren über den Abbau von CYP2D6 noch 3 % ($\pm 1,6$ %) und über CYP3A4 noch 0,6 % ($\pm 0,3$ %) von QUE vorhanden. In Kombination mit CAR lag die QUE-Konzentration nach 90 min über CYP2D6 bei 64 % ($\pm 12,0$ %) und über CYP3A4 bei 94 % ($\pm 3,8$ %).

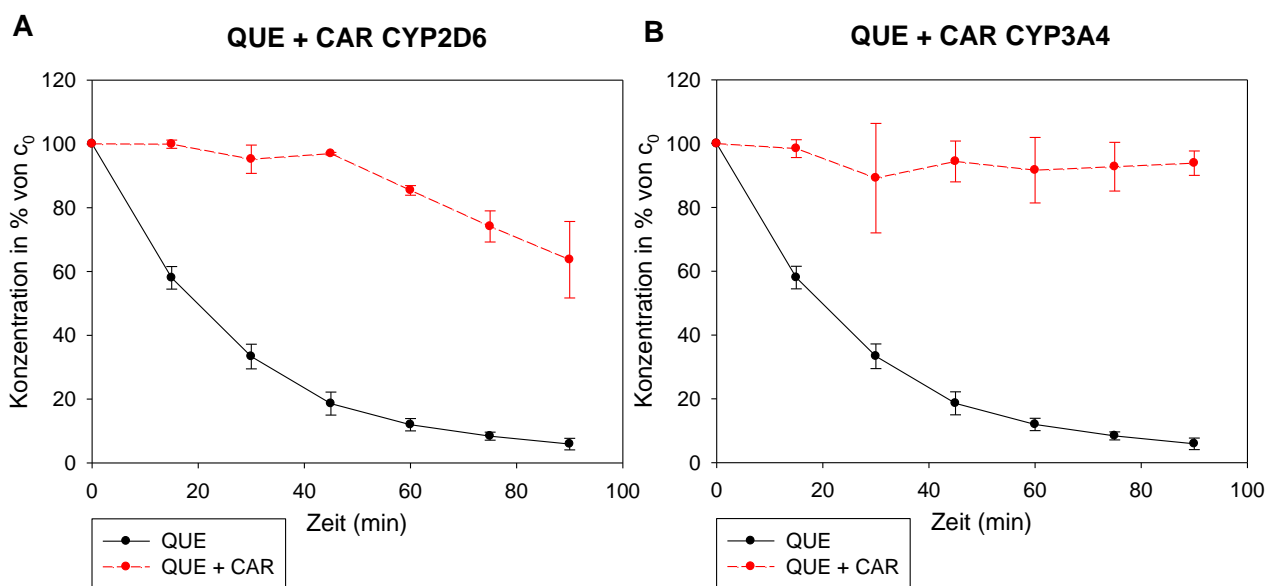


Abb. 29 Einfluss von CAR auf den Abbau von QUE über CYP2D6 und CYP3A4

0,025 pmol/ml CYP2D6 (A) und CYP3A4 (B) wurden jeweils mit 10 μ M QUE alleine und in Kombination mit 10 μ M CAR inkubiert. Nach 0, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 μ l des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μ l vorgelegtem eisgekühltem ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μ l des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben. Die Probenanzahl betrug $n = 3$.

Die Versuche an rekombinanten CYP-Isoenzymen zeigten, dass CAR ein Hemmstoff von CYP1A2, CYP2D6 und CYP3A4 ist.

4.2.2.4 Versuchsbedingungen unter therapeutischen Wirkstoffkonzentrationen

Um abschätzen zu können, ob der Hemmeffekt von CAR auf den Abbau von CLO und QUE von klinischer Relevanz ist, wurde die bisher eingesetzte Stoffmengenkonzentration von 10 µM in die jeweilige Massenkonzentration umgerechnet. Über den Vergleich mit den TRB sieht man, dass deutlich geringere Konzentrationen im Patienten zu erwarten sind, als bei den Experimenten eingesetzt wurden. Die Konzentrationen von CLO und QUE waren im Versuch um das ca. 5- bis 9-Fache bzw. 8- bis 38-Fache höher als der TRB. Bei CAR lag die im Experiment eingesetzte Wirkstoffkonzentration um das ca. 400- bis 800-Fache über den erwarteten Serumkonzentrationen (siehe Tab. 44).

Tab. 44 Vergleich der im Experiment eingesetzten Wirkstoffkonzentration mit dem TRB

Analyt	Molare Masse Base (g/mol)	Massenkonzentration (ng/ml) bei 10µM	TRB (ng/ml)
CAR	406,47	4065	5 - 10
CLO	326,82	3268	350 - 600
QUE	383,51	3835	100 - 500

Zur Untersuchung der klinischen Relevanz des Hemmeffekts von CAR wurden Konzentrationen eingesetzt, die den jeweiligen korrigierten TRB abdecken. Die Konzentrationen der unteren und oberen Grenze des korrigierten therapeutischen Referenzbereichs der Antipsychotika wurden jeweils mit jenen der unteren und oberen Grenze des korrigierten therapeutischen Referenzbereichs von CAR kombiniert (siehe Tab. 44).

Den Einfluss von CAR auf den Abbau von CLO und QUE in therapeutischen Konzentrationen zeigen Abb. 30 und Abb. 31.

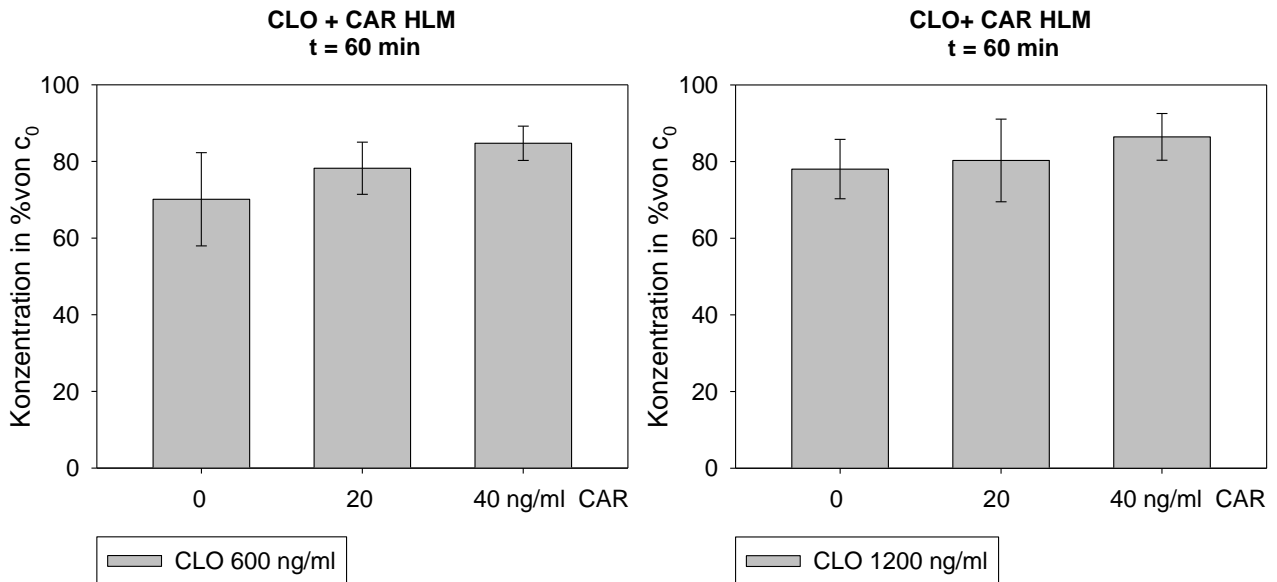


Abb. 30 Einfluss von CAR auf den Abbau von CLO in therapeutischen Konzentrationen

0,5 mg/ml HLM wurde jeweils mit 600 ng/ml CLO (A) und 1200 ng/ml CLO (B) alleine (erste Säule) und je mit 20 ng/ml bzw. 40 ng/ml CAR (zweite und dritte Säule) inkubiert. Nach 0 und 60 min wurden 90 µl des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 µl vorgelegtem eisgekühlten ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 µl des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben (siehe Tab. 22). Die Probenanzahl betrug n = 5.

In Abb. 30 ist eine Beeinflussung der Metabolisierung von CLO durch die inhibierenden Eigenschaften von CAR zu erkennen. Der Unterschied zwischen dem Abbau von CLO alleine und unter Zusatz von CAR war jedoch nicht statistisch signifikant, mit Ausnahme der Kombination CLO in der Konzentration 600 ng/ml und CAR mit 40 ng/ml ($p < 0,05$).

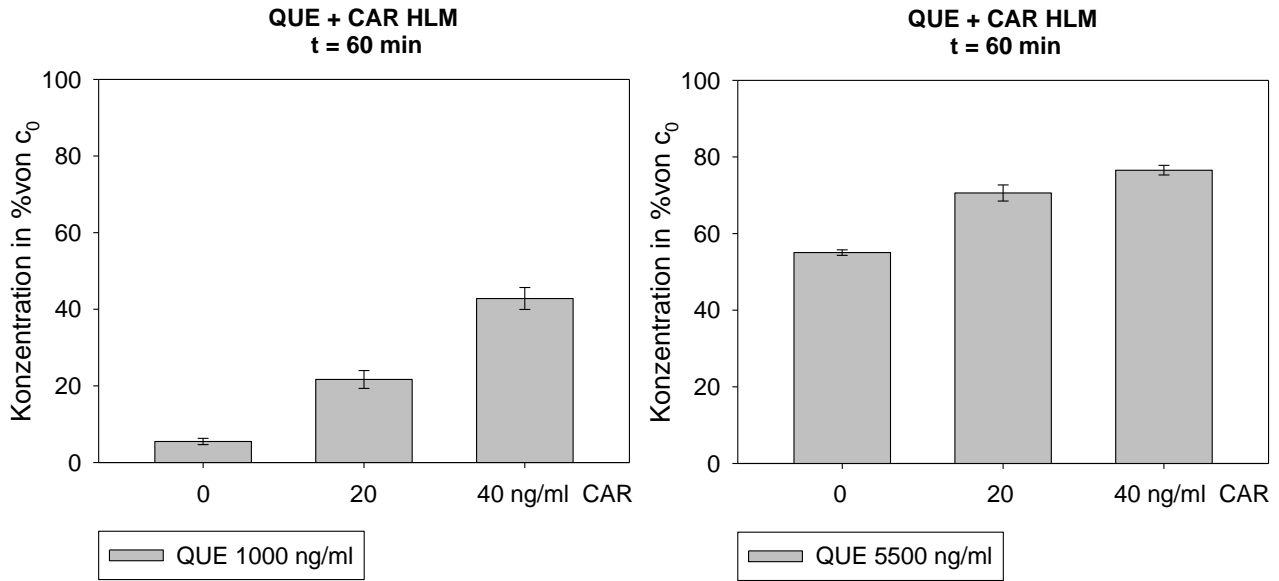


Abb. 31 Einfluss von CAR auf den Abbau von QUE in therapeutischen Konzentrationen

0,5 mg/ml HLM wurde jeweils mit 1000 ng/ml QUE (A) und 5500 ng/ml QUE (B) alleine (erste Säule) und je mit 20 ng/ml bzw. 40 ng/ml CAR (zweite und dritte Säule) inkubiert. Nach 0 und 60 min wurden 90 μ l des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μ l vorgelegtem eisgekühlten ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μ l des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben (siehe Tab. 23). Die Probenanzahl betrug $n = 3$.

Der Hemmeffekt von CAR auf den Abbau von QUE war in jeder Konzentrationskombination signifikant mit $p < 0,001$. Die Stärke der Inhibierung korreliert mit der Konzentration von CAR (siehe Abb. 31).

4.2.3 Einfluss der Antipsychotika auf den Stoffwechsel der β -Adrenozeptor-Antagonisten

4.2.3.1 Bestimmung der pharmakokinetischen Interaktion mithilfe von HLM

Abb. 32 zeigt den Einfluss der Antipsychotika auf den Metabolismus der β -AR-Antagonisten. Hierfür wurden humane Leberzellmikrosomen (0,5 mg Protein/ml) mit 10 μ M BIS, MET, PRO, CAR und NEB allein und jeweils in Kombination mit 10 μ M OLA, CLO und NEB versetzt (siehe Tab. 20).

Wie in Abb. 32 dargestellt, wurde der Metabolismus von BIS, MET, PRO, CAR und NEB durch die drei Antipsychotika QUE, CLO und OLA nicht gehemmt. In Kombination mit CLO zeigte sich der Abbau von NEB beschleunigt. Der Unterschied im Metabolismus war bei 30 min, 60 min und 75 min signifikant mit $p < 0,05$ und bei 15 min und 90 min mit $p < 0,01$. Nicht signifikant war der Unterschied nach 45 min.

Nach 90 min blieben 82 % ($\pm 4,6$ %), 61 % ($\pm 8,1$ %), 32 % ($\pm 6,5$ %), 46 % (4,0 %) und 95 % ($\pm 2,6$ %) der Ausgangskonzentration von MET, PRO, CAR, NEB und BIS übrig. BIS wurde nur zu einem geringen Anteil abgebaut, während CAR und NEB die höchste Metabolisierungsrate hatten.

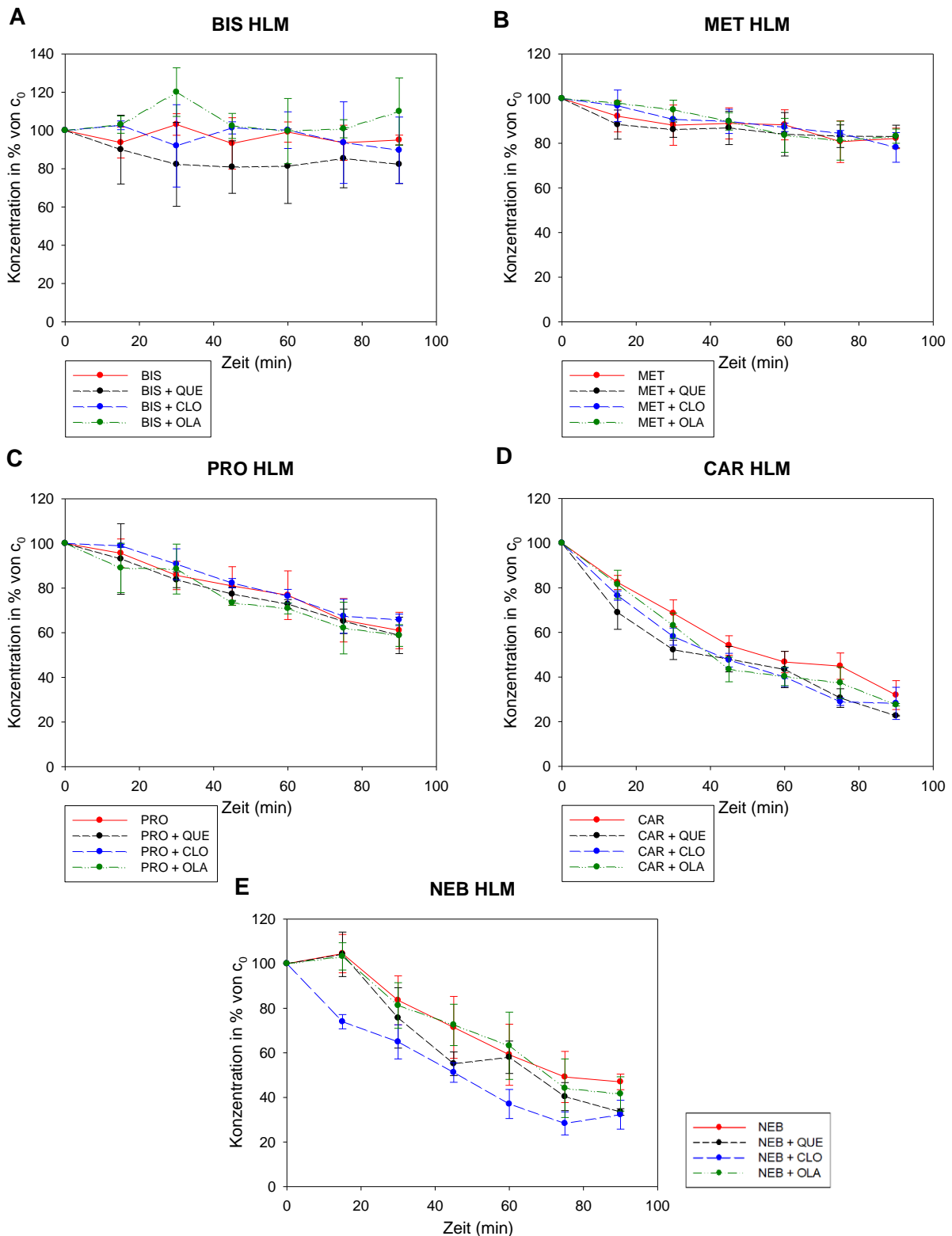


Abb. 32 Metabolismus von BIS (A), MET (B), PRO (C), CAR (D) und NEB (E) alleine und jeweils in Kombination mit QUE, CLO und OLA

0,5 mg/ml HLM wurde mit jeweils 10 μ M MET (A), PRO (B), CAR (C) und NEB (D) alleine (rote Kurve) und in Kombination je mit 10 μ M QUE, CLO und OLA inkubiert. Nach 0, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 μ l des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μ l vorgelegtem eisgekühltem ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μ l des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben. Die Probenanzahl betrug $n = 3$, außer bei NEB alleine mit $n = 6$.

4.2.3.2 Bestimmung der pharmakokinetischen Interaktion mithilfe von rekombinanten CYP-Isoenzymen

In diesem Kapitel wurden die in der Literatur beschriebenen Hemmeffekte von OLA auf das CYP1A2 und von CLO auf das CYP2D6 untersucht. Abb. 33 zeigt den Einfluss von OLA auf den Metabolismus von PRO und CAR über rekombinantes CYP1A2.

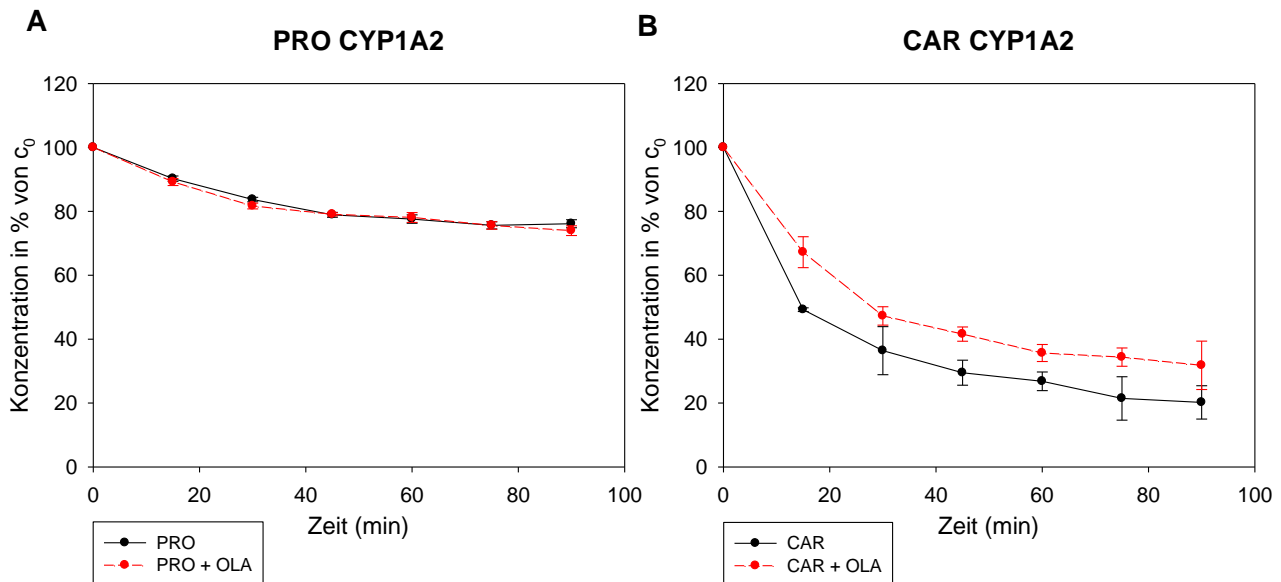


Abb. 33 Einfluss von OLA auf den Abbau von PRO (A) und CAR (B) über CYP1A2

0,025 pmol/ml rekombinantes CYP1A2 wurde mit jeweils 10 μ M PRO (A) und CAR (B) alleine und je in Kombination mit 10 μ M OLA inkubiert. Nach 0, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 μ l des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μ l vorgelegtem eisgekühlten ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μ l des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben. Die Probenanzahl betrug $n = 3$.

Nach 90 min waren noch 20 % ($\pm 5,2$ %) der Ausgangskonzentration von CAR vorhanden. Bei gleichzeitiger Inkubation mit OLA lag die CAR-Konzentration bei 32 % ($\pm 7,6$ %) der Ausgangskonzentration (c_0). Der Konzentrationsunterschied zwischen CAR alleine und CAR in Kombination mit OLA war bei 30 min und 90 min jedoch nicht signifikant ($p < 0,08$ und $p < 0,09$). Ein signifikanter Unterschied wurde nach 15 min, 60 min und 75 min mit $p < 0,05$ und nach 45 min mit $p < 0,01$ gefunden. PRO wies über CYP1A2 eine geringere Metabolismusrate als CAR auf. Nach 90 min blieben von PRO 76 % ($\pm 1,3$ %) und bei CAR 20 % ($\pm 5,2$ %) der Ausgangskonzentration übrig.

Die Experimente mit rekombinantem CYP1A2 konnten zeigen, dass OLA den Metabolismus von CAR geringfügig hemmt, wohingegen der Abbau von PRO in Kombination mit OLA unverändert bleibt (siehe Abb. 33).

Abb. 34 zeigt den Einfluss von CLO auf den Metabolismus von MET, PRO, CAR und NEB über rekombinantes CYP2D6. Zusätzlich wurde auch der Einfluss von QUE untersucht, auch wenn QUE bisher nicht als CYP2D6-Hemmstoff in der Literatur beschrieben wurde.

Nach 90 min waren bei MET noch 10 % ($\pm 4,8$) der Ausgangskonzentration vorhanden. Bei gleichzeitiger Inkubation mit CLO lag die Konzentration nach 90 min bei 18 % ($\pm 0,9$ %). Der Unterschied im Abbau von MET alleine und von MET in Kombination mit CLO war zu jedem Zeitpunkt statistisch signifikant (nach 15 min und 30 min: $p < 0,001$; nach 45 min, 75 min und 90 min: $p < 0,01$, nach 60 min: $p < 0,05$). Bei PRO lagen nach 90 min noch 0,03 % ($\pm 0,051$ %) der Ausgangskonzentration vor. In Kombination mit CLO blieben 3 % ($\pm 1,1$ %) von PRO übrig. Die Hemmung des Abbaus von PRO durch CLO war signifikant (nach 15 min: $p < 0,05$; nach 30 min: $p < 0,01$, nach 45 min: $p < 0,001$). CAR war nach 75 min komplett abgebaut und zeigte daher die höchste Metabolisierungsrate. Unter den vier untersuchten Beta-Blockern war der Abbau über CYP2D6 bei NEB am geringsten. Nach 90 min waren von NEB noch 23 % ($\pm 9,6$ %) der Konzentration zum Zeitpunkt Null (c_0) vorhanden. Der Metabolismus von CAR und NEB wurde von CLO nicht beeinflusst.

Die Experimente mit rekombinantem CYP2D6 zeigten, dass CLO den Metabolismus von MET und PRO geringfügig inhibiert. Der Abbau von CAR und NEB blieb durch CLO unverändert. QUE zeigte bei keinem der vier Beta-Blocker hemmende Eigenschaften (siehe Abb. 34).

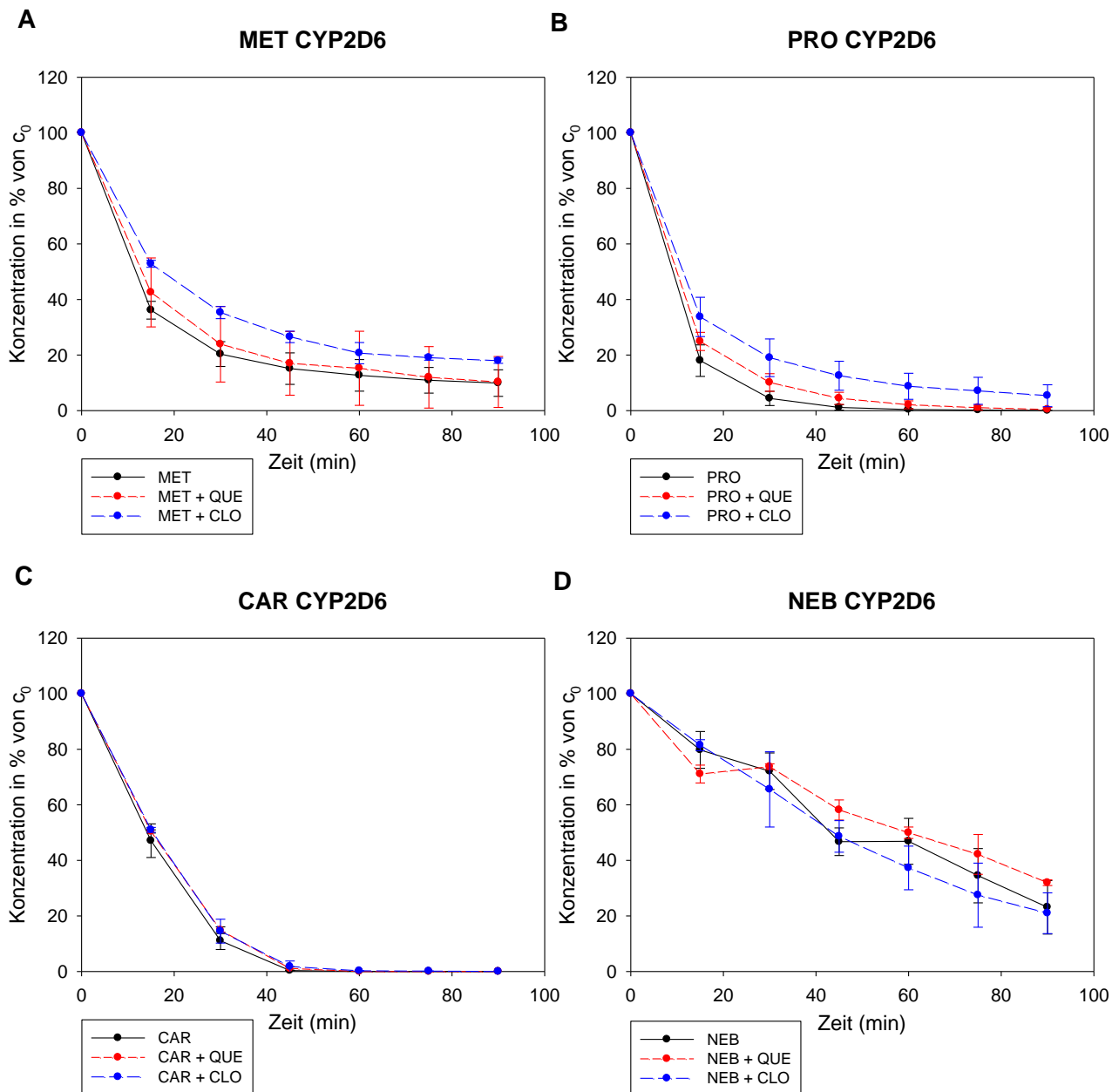


Abb. 34 Einfluss von CLO und QUE auf den Abbau von MET (A), PRO (B), CAR (C) und NEB (D) über CYP2D6

0,025 pmol/ml rekombinantes CYP2D6 wurde mit jeweils 10 μ M MET (A), PRO (B), CAR (C) und NEB (D) alleine und in Kombination je mit 10 μ M CLO und QUE inkubiert. Nach 0, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 min wurden 90 μ l des Inkubationsansatzes entnommen und zu 90 μ l vorgelegtem eisgekühlten ACN hinzugegeben. Nach Zentrifugation erfolgte die Analyse von 125 μ l des Überstandes über HPLC-UV. Die Konzentrationen wurden in Prozent in Relation zur Ausgangskonzentration (Probenentnahme nach 0 min) angegeben. Die Probenanzahl betrug $n = 3$, mit Ausnahme von MET + CLO, MET + QUE und PRO + CLO mit $n = 6$ und NEB + CLO mit $n = 5$.

4.3 KONBEST®-Auswertung

Seit Beginn der Verwendung von KONBEST® im Jahr 2005 bis zum Mai 2014 wurden im TDM-Labor Regensburg 5020 OLA-, 5267 CLO- und 4023 QUE-Proben gemessen. 9,5 % dieser Antipsychotika-Proben enthielten einen der sieben β -AR-Antagonisten BIS, MET, PRO, CAR, NEB, ATE und TIM (siehe Tab. 45).

Tab. 45 Anteil der Antipsychotika OLA, CLO und QUE in Kombination mit einem β -AR-Antagonisten

	Antipsychotikum Anzahl	Antipsychotikum + β -AR-Antagonist	
		Anzahl	Anteil*
OLA	5020	275	5,5 %
CLO	5267	675	12,8 %
QUE	4023	416	10,3 %
Gesamt	14310	1366	9,5 %

*Prozentangaben sind gerundet.

Mit einem Anteil von 45 % an allen β -AR-Antagonisten-Proben war BIS am häufigsten vertreten, gefolgt von MET mit einem Anteil von 32,7 %. PRO hatte einen Anteil von 14,9 % aller β -AR-Antagonisten-Proben, während die Häufigkeit von ATE, CAR, NEB und TIM bei 1,8 %, 1,5 %, 1,9 % und 2,1 % lag (siehe Tab. 46).

Tab. 46 Häufigkeit der verschiedenen β -AR-Antagonisten je Antipsychotikum und OLA, CLO und QUE gemeinsam

	OLA + β -AR-Antagonist (n = 275)		CLO + β -AR-Antagonist (n = 675)		QUE + β -AR-Antagonist (n = 416)		Antipsychotikum + β -AR-Antagonist (n = 1366)	
	Anzahl	Anteil*	Anzahl	Anteil*	Anzahl	Anteil*	Anzahl	Anteil*
MET	96	34,9 %	223	33,0 %	128	30,8 %	447	32,7 %
BIS	120	43,6 %	309	45,8 %	186	44,7 %	615	45,0 %
PRO	29	10,6 %	111	16,4 %	64	15,4 %	204	14,9 %
ATE	4	1,5 %	18	2,7 %	3	0,7 %	25	1,8 %
CAR	7	2,5 %	5	0,7 %	8	1,9 %	20	1,5 %
NEB	5	1,8 %	1	0,1 %	20	4,8 %	26	1,9 %
TIM	14	5,1 %	8	1,2 %	7	1,7 %	29	2,1 %

*Prozentangaben sind gerundet.

In Tab. 47 wurden die über die KONBEST®-Auswertung ermittelten Häufigkeiten mit den Daten des Arzneimittelverordnungs-Reports 2010 verglichen. Im Arzneimittelverordnungs-Report zeigte sich MET als der am häufigsten eingesetzte β -AR-Antagonist mit einem Anteil von 45,6 %. BIS hatte einen Anteil von 32,7 % aller β -AR-Antagonisten. Auffällig war das geringe Vorkommen von PRO von 1,1 % im Vergleich von 14,9 % in der KONBEST®-Auswertung.

Tab. 47 Häufigkeit der β -AR-Antagonisten im Arzneimittelverordnungs-Report 2010 verglichen mit den Daten der KONBEST®-Auswertung

	Arzneiverordnungs-Report 2010		KONBEST® 2005 - 2014
	Anzahl (DDD in Mio)	Anteil*	Anteil*
MET	875,2	45,6 %	32,7 %
BIS	628,0	32,7 %	45,0 %
PRO	20,6	1,1 %	14,9 %
ATE	60,8	3,2 %	1,8 %
CAR	103,1	5,4 %	1,5 %
NEB	122,5	6,4 %	1,9 %
TIM	110,7	5,8 %	2,1 %

*Prozentangaben sind gerundet.

DDD in Mio definierte Tagesdosen in Millionen (Defined Daily Dose)

[153]

4.4 Therapeutisches Drug Monitoring mithilfe der entwickelten HPLC-Methode

4.4.1 Faktoren zur Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs über C_{av}

In Tab. 48 sind die Faktoren aufgeführt, die zur Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs mit der Dosis (mg) des jeweiligen β -AR-Antagonisten multipliziert werden (für die Ermittlung des DRB_{av} siehe Kapitel 3.2.4.2, Formel 4).

Tab. 48 Faktoren zur Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs (C_{av})

Analyt	Faktor untere Grenze DRB*	Faktor obere Grenze DRB*
BIS	1,683	2,531
MET-tartrat	0,162	0,315
MET-succinat	0,170	0,331
PRO	0,375	0,779
CAR	0,248	0,347
ATE	1,929	4,167
NEB	0,073	0,114
TIM	0,464	0,724

*Werte sind gerundet.

4.4.2 Faktoren zur Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs über C_{min}

In Tab. 49 sind die Faktoren entsprechend des Dosisintervalls (τ) und des Zeitintervalls (Δt) zwischen Blutentnahme und letzter Tabletteneinnahme dargestellt (für die Ermittlung des DRB_{min} siehe Kapitel 3.2.4.2, Formel 5). In Tab. 49 wurden für jeden Wirkstoff die Faktoren für eine Blutentnahme um 8.00 Uhr bei einmaliger Tabletteneinnahme morgens ($\tau = 24$ h), bei zweimal täglicher ($\tau = 12$ h) und dreimal täglicher Medikamenteneinnahme ($\tau = 8$ h) angegeben. Die Verwendung dieser Faktoren setzt voraus, dass bei aufgeteilter Dosis die Tabletteneinnahme gleichmäßig über den Tag verteilt ist und die Teildosen gleichgroß sind (siehe Kapitel 3.2.4.2).

Tab. 49 Faktoren zur Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs (C_{min}) bei gleichmäßiger Verteilung der Teildosen über den Tag

Analyt	τ	Δt	Faktor untere Grenze*	Faktor obere Grenze*	Analyt	τ	Δt	Faktor untere Grenze*	Faktor obere Grenze*
BIS	24	24	0,726	1,275	CAR	24	24	0,070	0,098
	12	12	2,393	3,824		12	12	0,300	0,420
	8	8	4,189	6,510		8	8	0,566	0,792
MET-tartrat	24	24	0,005	0,027	ATE	24	24	0,504	1,814
	12	12	0,085	0,243		12	12	2,521	6,385
	8	8	0,237	0,567		8	8	4,977	11,392
MET-succinat	24	24	0,005	0,028	NEB	24	24	0,053	0,083
	12	12	0,089	0,255		12	12	0,131	0,204
	8	8	0,249	0,595		8	8	0,210	0,327
PRO	24	24	0,012	0,067	TIM	24	24	0,087	0,135
	12	12	0,196	0,600		12	12	0,481	0,749
	8	8	0,549	1,400		8	8	0,977	1,523

*Werte sind gerundet.

τ Dosisintervall

Δt Zeitintervall zwischen Blutabnahme und letzter Tabletteneinnahme

Da anzunehmen ist, dass bei den in dieser Arbeit getesteten Patienten die Teildosen ungleichmäßig über den Tag verteilt eingenommen wurden, wurde der dosisbezogene Referenzbereich über die Faktoren in Tab. 50 berechnet. Für jede Teildosis wird der dosisbezogene Referenzbereich einzeln ermittelt und anschließend addiert und mit der gemessenen Konzentration verglichen (für die Ermittlung des DRB_{min} siehe Kapitel 3.2.4.2, Formel 6). In Tab. 50 A sind die Faktoren bei Blutabnahme um 8.00 Uhr und Tabletteneinnahme morgens um 8.00 Uhr ($\Delta t = 24$ h), mittags um 13.00 Uhr ($\Delta t = 19$ h) und abends um 18 Uhr ($\Delta t = 14$ h) angegeben. In Tab. 50 B sind die Sonderfälle mit

abweichenden Blutabnahmezeiten dargestellt. Bei der Berechnung der angegebenen Faktoren wurde das um t_{\max} (Zeit bis zum Erreichen von C_{\max}) verkürzte Zeitintervall Δt bereits berücksichtigt.

Tab. 50 Faktoren zur Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs (C_{\min}) bei ungleichen Teildosen und nicht gleichmäßiger Verteilung der Teildosen über den Tag

A				B			
Analyt	Δt	Faktor untere Grenze*	Faktor obere Grenze*	Analyt	Δt	Faktor untere Grenze*	Faktor obere Grenze*
BIS	24	0,726	1,275	BIS	6	2,527	3,605
	19	1,026	1,701		8	2,200	3,212
	14	1,451	2,271		18	1,100	1,803
MET-tartrat	24	0,005	0,027		20	0,958	1,606
	19	0,016	0,064		22	0,834	1,431
	14	0,050	0,153	MET-tart	6	0,319	0,611
MET-succinat	24	0,005	0,028	MET-succinat	2	0,842	1,282
	19	0,017	0,067		3	0,668	1,078
	14	0,053	0,160		8	0,211	0,453
PRO	24	0,012	0,067		9	0,167	0,381
	19	0,037	0,159		11	0,105	0,269
	14	0,116	0,377		12	0,084	0,227
CAR	24	0,070	0,098		17	0,026	0,095
	19	0,115	0,161		21	0,010	0,048
	14	0,188	0,264		22	0,008	0,040
ATE	24	0,504	1,814	PRO	2	1,859	3,017
	19	0,898	2,666		4	1,171	2,133
	14	1,601	3,918		11	0,232	0,634
NEB	24	0,053	0,083		12	0,184	0,533
	19	0,062	0,097		16	0,073	0,267
	14	0,073	0,114		18	0,046	0,189
TIM	24	0,087	0,135		21	0,023	0,112
	19	0,163	0,254	ATE	4	5,083	8,464
	14	0,306	0,477		11	2,264	4,937
			18		1,008	2,879	

*Werte sind gerundet.

Δt Zeitintervall zwischen Blutabnahme und letzter Tabletteneinnahme

4.4.3 Ermittlung des Zeitintervalls bei welchem eine Vergleichbarkeit der über beide Berechnungsarten ermittelten dosisbezogenen Referenzbereiche besteht

Gemäß der Formel 7 (Kapitel 3.2.4.3) wurde das Zeitintervall zwischen Blutabnahme und letzter Tabletteneinnahme berechnet, bei welchem der dosisbezogene Referenzbereich für gleiche Ergebnisse sowohl über C_{\min} als auch über C_{av} ermittelt werden kann. In Tab. 51 sind die Zeitintervalle der jeweiligen Wirkstoffe entsprechend ihrer täglichen Einnahmehäufigkeit aufgeführt.

Wählt man den Zeitpunkt der Blutabnahme bei BIS 12 h, bei MET 9,5 h, bei CAR 11 h, bei NEB 14 h und bei ATE 13 h nach der Tabletteneinnahme kann zur Berechnung des DRB sowohl C_{\min} als auch C_{av} herangezogen werden. Erfolgt die Arzneistoffapplikation zweimal täglich ($\tau = 12$ h), muss für gleiche dosisbezogene Referenzbereiche das Blut bei MET und PRO nach 6,5 h, bei CAR und TIM nach 7 h und bei ATE nach 8,5 h abgenommen werden. Wird PRO dreimal täglich eingenommen ($\tau = 8$ h), sollte die Blutabnahme 5 h nach der Medikamenteneinnahme erfolgen (siehe Tab. 51).

Tab. 51 Zeitintervall bei Vergleichbarkeit von DRB_{av} und DRB_{\min}

	Dosisintervall τ (h)	Zeitintervall Δt (h)*
BIS	24	12
MET	24	9,5
	12	6,5
PRO	12	6,5
	8	5
CAR	24	11
	12	7
NEB	24	14
ATE	24	13
	12	8,5
TIM	12	7

*Werte sind gerundet.

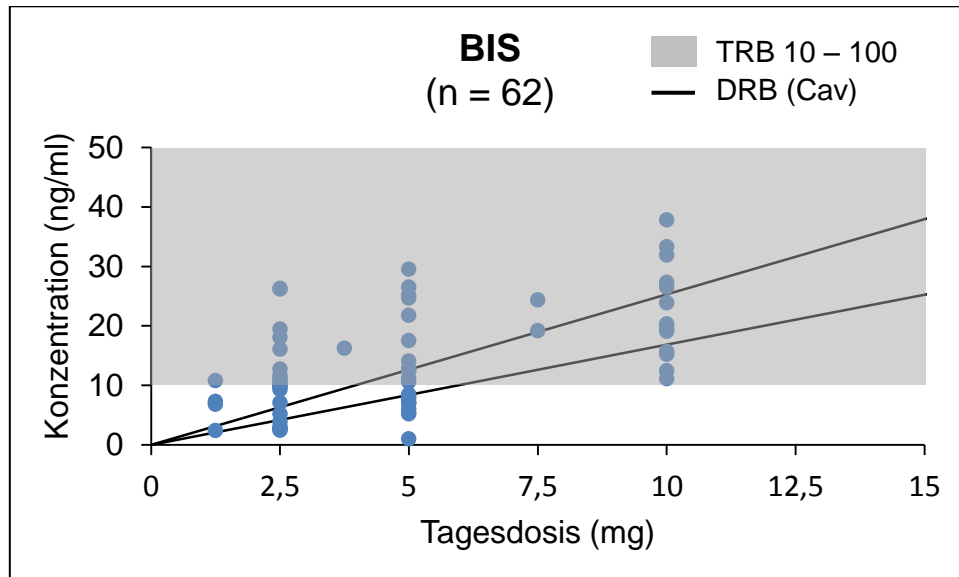
4.4.4 Konzentrationsbestimmungen von β -Adrenozeptor-Antagonisten aus Patientenproben

Die gemessenen Serumkonzentrationen der β -AR-Antagonisten wurden in den therapeutischen und in den dosisbezogenen Referenzbereich eingeordnet und die Ergebnisse graphisch über die Dosis-Konzentrationsbeziehung dargestellt. Mithilfe der Neun-Felder-Tafel wurden die beiden dosisbezogenen Referenzbereiche, ermittelt über die mittlere Tageskonzentration C_{av} und die Minimalkonzentration C_{min} , miteinander verglichen. Patientendaten, die zur Berechnung der dosisbezogenen Referenzbereiche notwendig sind, wie Dosis, Uhrzeit der Blutentnahme und Zeitpunkt der Tabletteneinnahme, sind im Anhang unter Kapitel 7.3 aufgeführt.

Bei der Auswertung über C_{min} wurde die Dosis-Konzentrationsbeziehung für die zwei häufigsten Kombinationen von Dosierungsintervall und Zeitintervall zwischen Blutentnahme und letzter Tabletteneinnahme (Δt) dargestellt. Bis auf PRO wurde bei allen Wirkstoffen die Grafik jeweils für einmal tägliche ($\Delta t = 24$ h, siehe jeweils Abb. A) oder zweimal tägliche ($\Delta t = 14$ h und $\Delta t = 24$ h, siehe jeweils Abb. B) Tabletteneinnahme abgebildet. PRO wird nur selten einmal täglich verabreicht, weshalb die Darstellung der Dosis-Konzentrationsbeziehung hier für eine zweimalige ($\Delta t = 14$ h und $\Delta t = 24$ h, siehe Abb. 42A) und dreimalige ($\Delta t = 14$ h, $\Delta t = 19$ h und $\Delta t = 24$ h, siehe Abb. 42B) Medikamentengabe erfolgte. Bei den Neun-Felder-Tafeln wurde jeweils die Auswertung aller Proben dargestellt, auch wenn sie in der Grafik der Dosis-Konzentrationsbeziehung nicht berücksichtigt wurden.

A Konzentrationsbestimmung von Bisoprolol

Abb. 35 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen BIS-Proben mit Darstellung von DRB_{av} und TRB

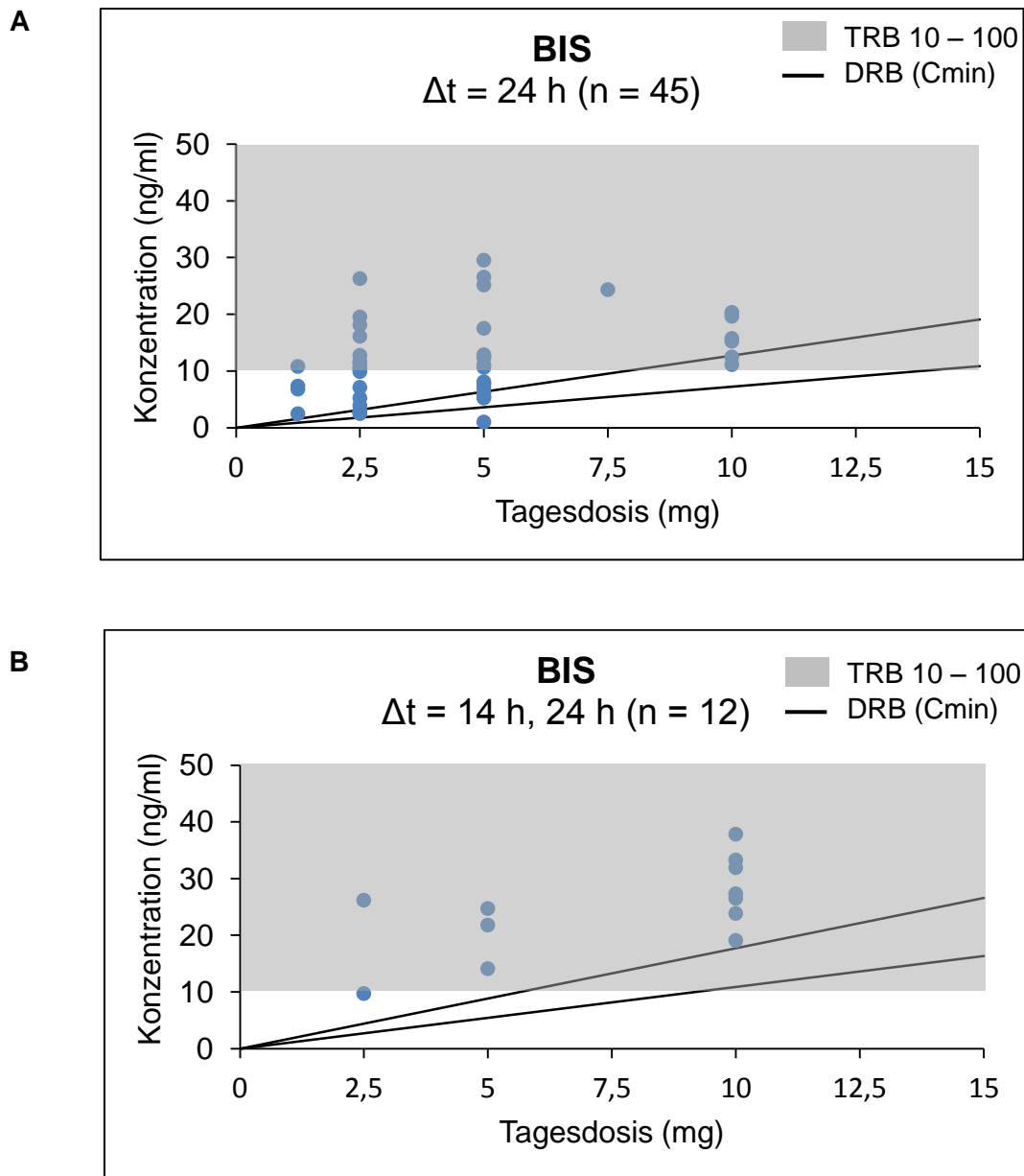


Tab. 52 Neun-Felder-Tafel der gemessenen BIS-Proben mit DRB über C_{av}

BIS (n = 62)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C_{av})	zu niedrig	11 (17,7 %)	4 (6,5 %)		15 (24,2 %)
	passend	5 (8,1 %)	9 (14,5 %)		14 (22,6 %)
	zu hoch	6 (9,7 %)	27 (43,5 %)		33 (53,2 %)
	Gesamt	22 (35,5 %)	40 (64,5 %)		

Prozentangaben sind gerundet.

Abb. 36 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen BIS-Proben mit Darstellung von DRB_{min} und TRB



Tab. 53 Neun-Felder-Tafel der gemessenen BIS-Proben mit DRB über C_{min}

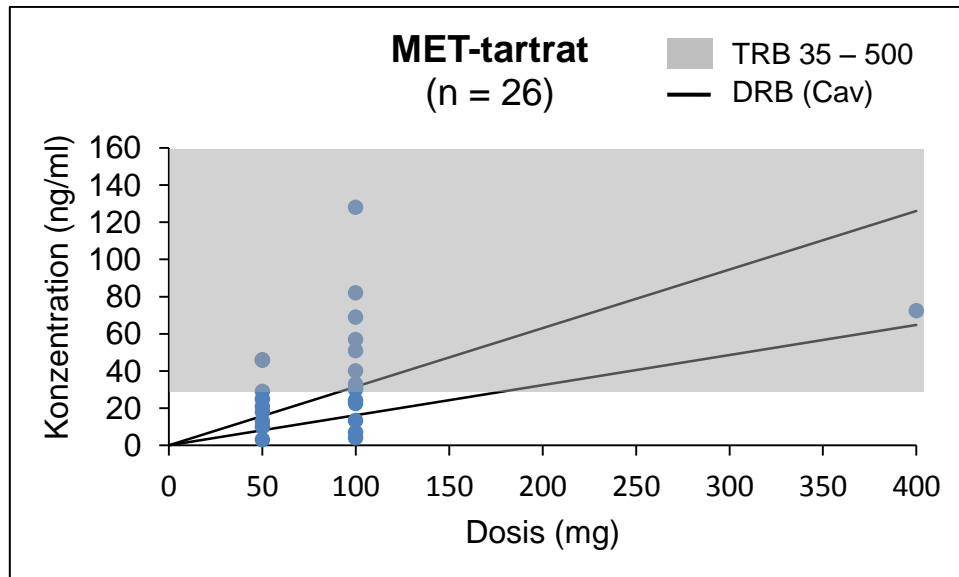
BIS (n = 62)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C _{min})	zu niedrig	1 (1,6 %)			1 (1,6 %)
	passend	9 (14,5 %)	2 (3,2 %)		11 (17,7 %)
	zu hoch	12 (19,4 %)	38 (61,3 %)		50 (80,6 %)
	Gesamt	22 (35,5 %)	40 (64,5 %)		

Prozentangaben sind gerundet.

B Konzentrationsbestimmung von Metoprolol

B1. Metoprololtartrat

Abb. 37 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen MET-tartrat-Proben mit Darstellung von DRB_{av} und TRB

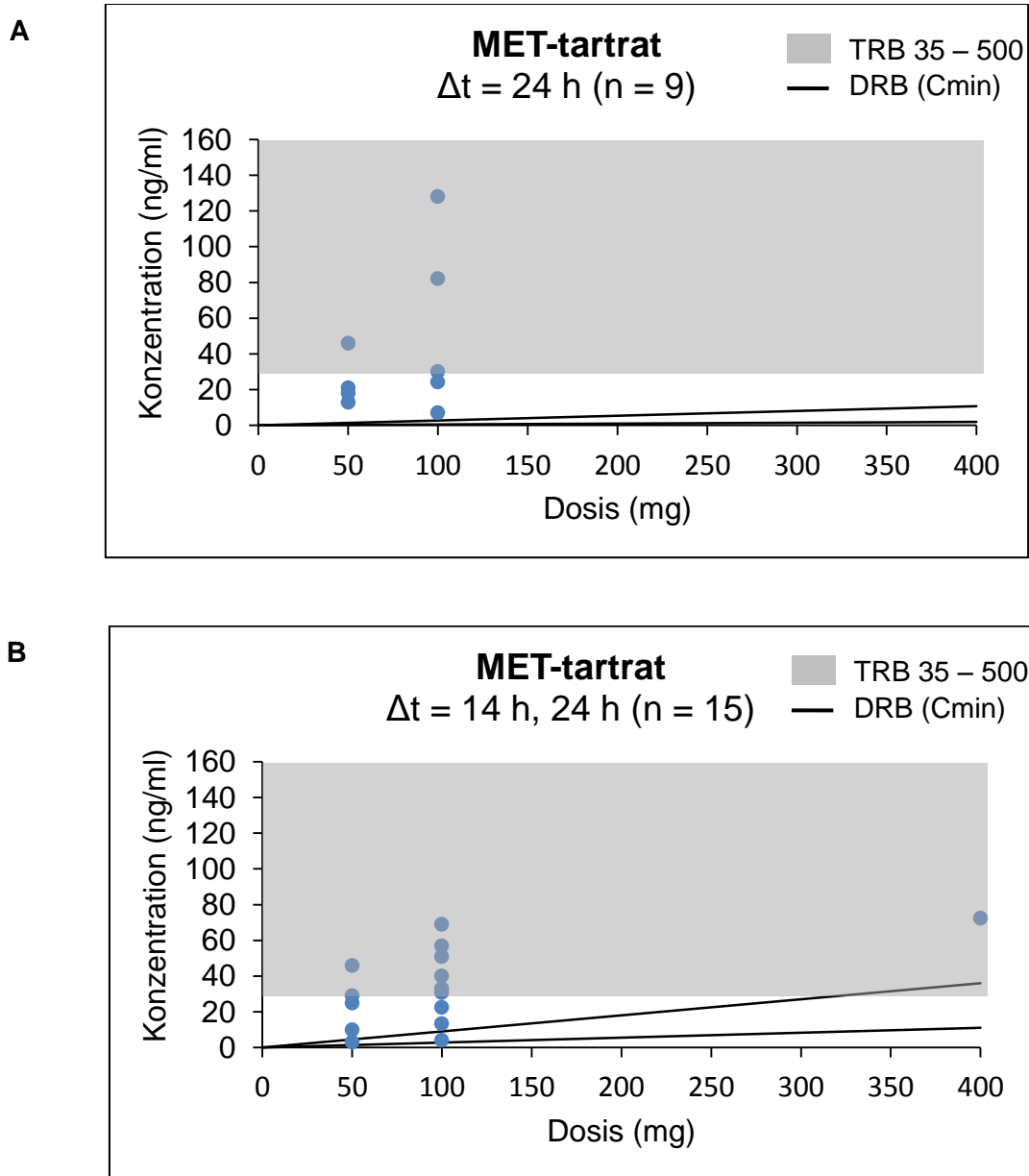


Tab. 54 Neun-Felder-Tafel der gemessenen MET-tartrat-Proben mit DRB über C_{av}

MET-tartrat (n = 26)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C _{av})	zu niedrig	5 (19,2 %)			5 (19,2 %)
	passend	3 (11,5 %)	1 (3,8 %)		4 (15,4 %)
	zu hoch	7 (26,9 %)	10 (38,5 %)		17 (65,4 %)
	Gesamt	15 (57,7 %)	11 (42,3 %)		

Prozentangaben sind gerundet.

Abb. 38 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen MET-tartrat-Proben mit Darstellung von DRB_{min} und TRB



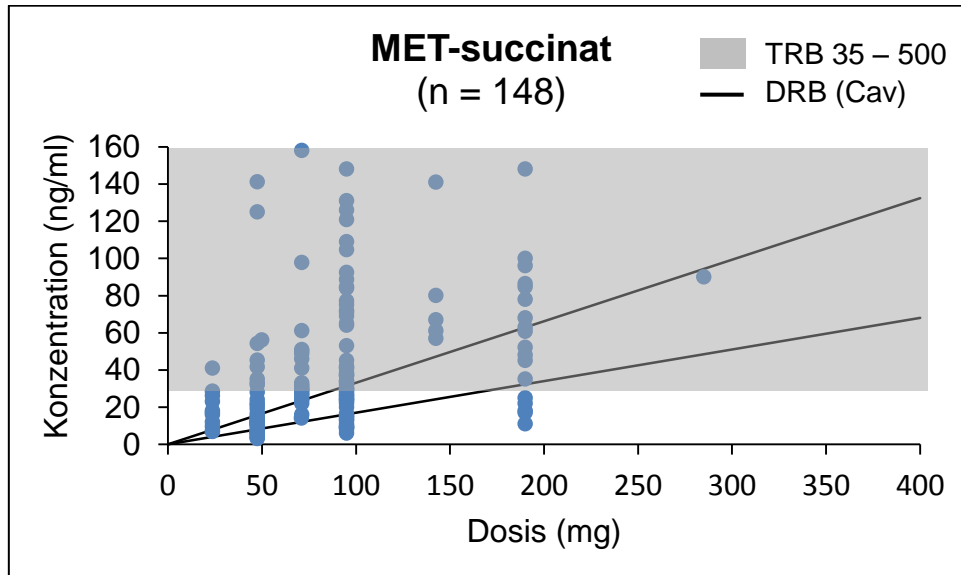
Tab. 55 Neun-Felder-Tafel der gemessenen MET-tartrat-Proben mit DRB über C_{min}

MET-tartrat (n = 26)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis-bezogener Referenzbereich (C _{min})	zu niedrig				
	passend	2 (7,7 %)			2 (7,7 %)
	zu hoch	13 (50,0 %)	11 (42,3 %)		24 (92,3 %)
	Gesamt	15 (57,7 %)	11 (42,3 %)		

Prozentangaben sind gerundet.

B2. Metoprololsuccinat

Abb. 39 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen MET-succinat-Proben mit Darstellung von DRB_{av} und TRB

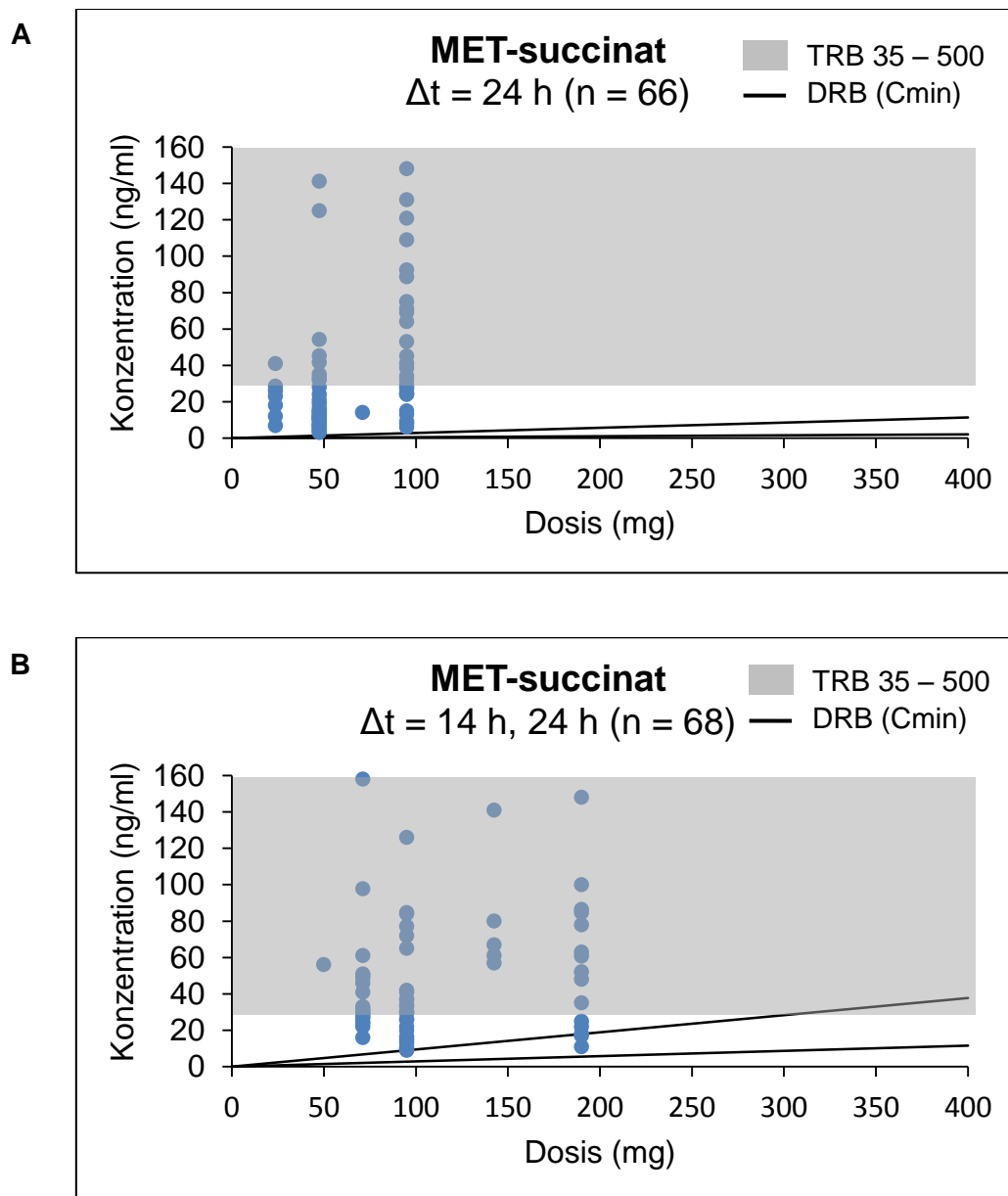


Tab. 56 Neun-Felder-Tafel der gemessenen MET-succinat-Proben mit DRB über C_{av}

MET-succinat (n = 148)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C _{av})	zu niedrig	25 (16,9 %)			25 (16,9 %)
	passend	32 (21,6 %)	7 (4,7 %)		39 (26,4 %)
	zu hoch	30 (20,3 %)	54 (36,5 %)		84 (56,8 %)
	Gesamt	87 (58,8 %)	61 (41,2 %)		

Prozentangaben sind gerundet.

Abb. 40 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen MET-succinat-Proben mit Darstellung von DRB_{min} und TRB



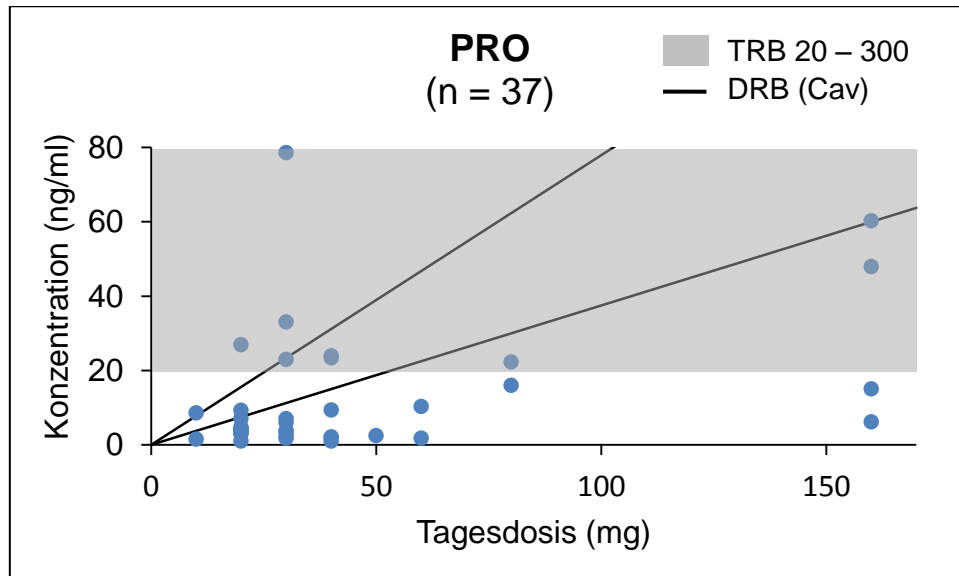
Tab. 57 Neun-Felder-Tafel der gemessenen MET-succinat-Proben mit DRB über C_{min}

MET-succinat (n = 148)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C _{min})	zu niedrig	1 (0,7 %)	1 (0,7 %)		2 (1,4 %)
	passend	6 (4,1 %)	1 (0,7 %)		7 (4,7 %)
	zu hoch	80 (54,1 %)	59 (39,9 %)		139 (93,9 %)
	Gesamt	87 (58,8 %)	61 (41,2 %)		

Prozentangaben sind gerundet.

C Konzentrationsbestimmung von Propranolol

Abb. 41 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen PRO-Proben mit Darstellung von DRB_{av} und TRB

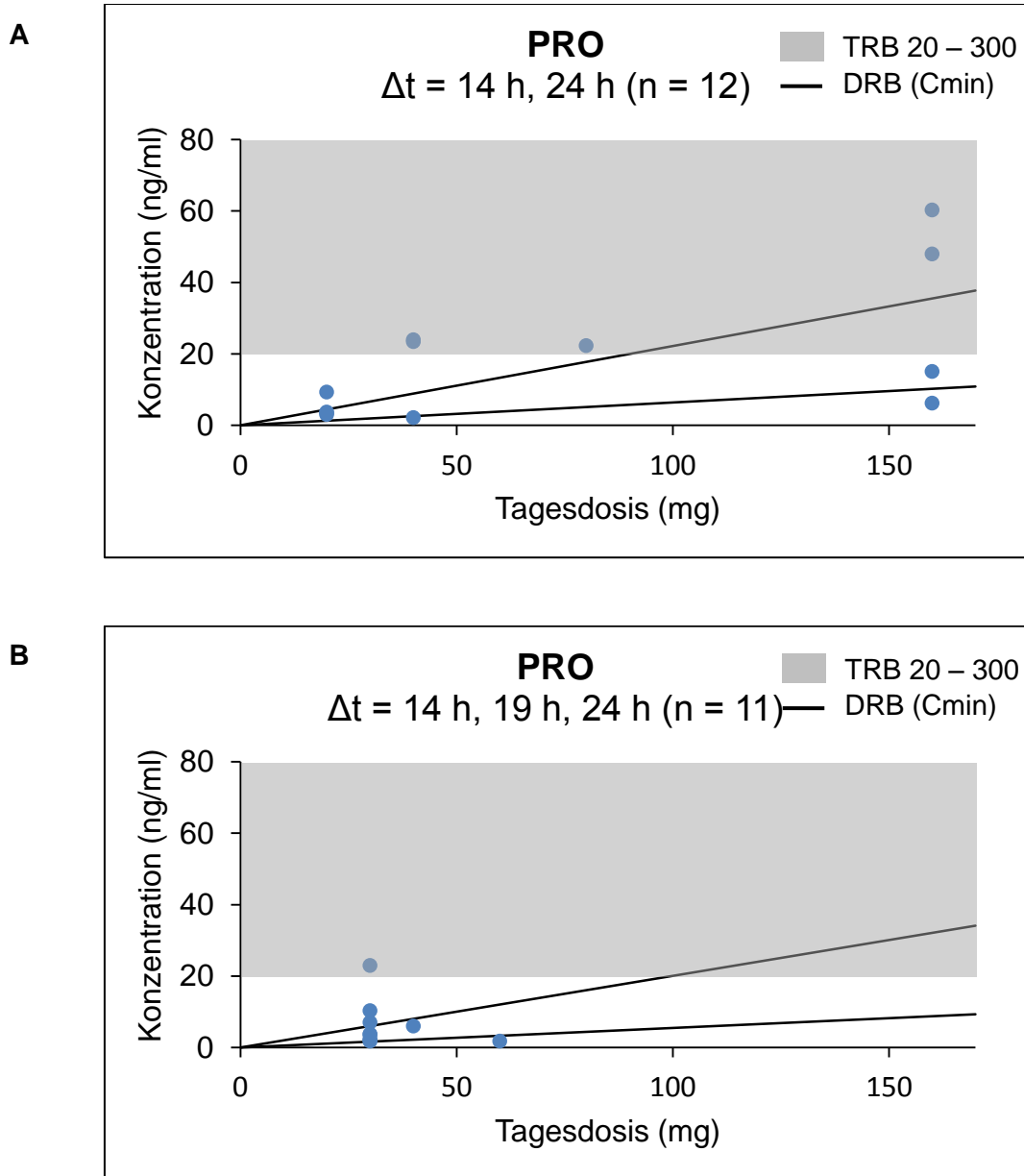


Tab. 58 Neun-Felder-Tafel der gemessenen PRO-Proben mit DRB über C_{av}

PRO (n=37)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C_{av})	zu niedrig	26 (70,3 %)	2 (5,4 %)		28 (75,7%)
	passend	1 (2,7 %)	4 (10,8 %)		5 (13,5 %)
	zu hoch	1 (2,7 %)	3 (8,1 %)		4 (10,8 %)
	Gesamt	28 (75,7 %)	9 (24,3 %)		

Prozentangaben sind gerundet.

Abb. 42 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen PRO-Proben mit Darstellung von DRB_{min} und TRB



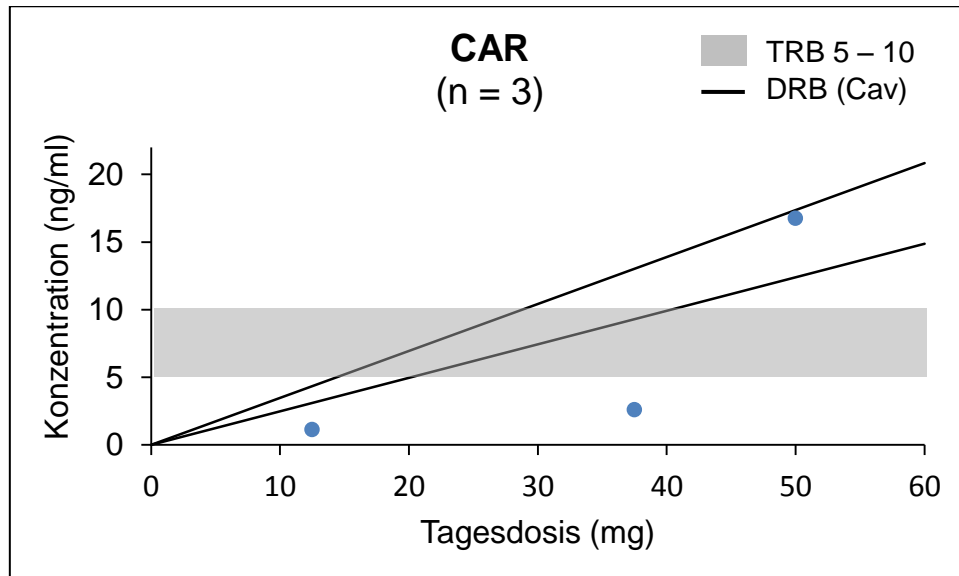
Tab. 59 Neun-Felder-Tafel der gemessenen PRO-Proben mit DRB über C_{min}

PRO (n = 37)		Therapeutische Referenzbereich			Gesamt
		zu niedrig	passend	zu hoch	
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C _{min})	zu niedrig	7 (18,9 %)			7 (18,9 %)
	passend	14 (37,8 %)			14 (37,8 %)
	zu hoch	7 (18,9 %)	9 (24,3 %)		16 (43,2 %)
	Gesamt	28 (75,7 %)	9 (24,3 %)		

Prozentangaben sind gerundet.

D Konzentrationsbestimmung von Carvedilol

Abb. 43 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen CAR-Proben mit Darstellung von DRB_{av} und TRB

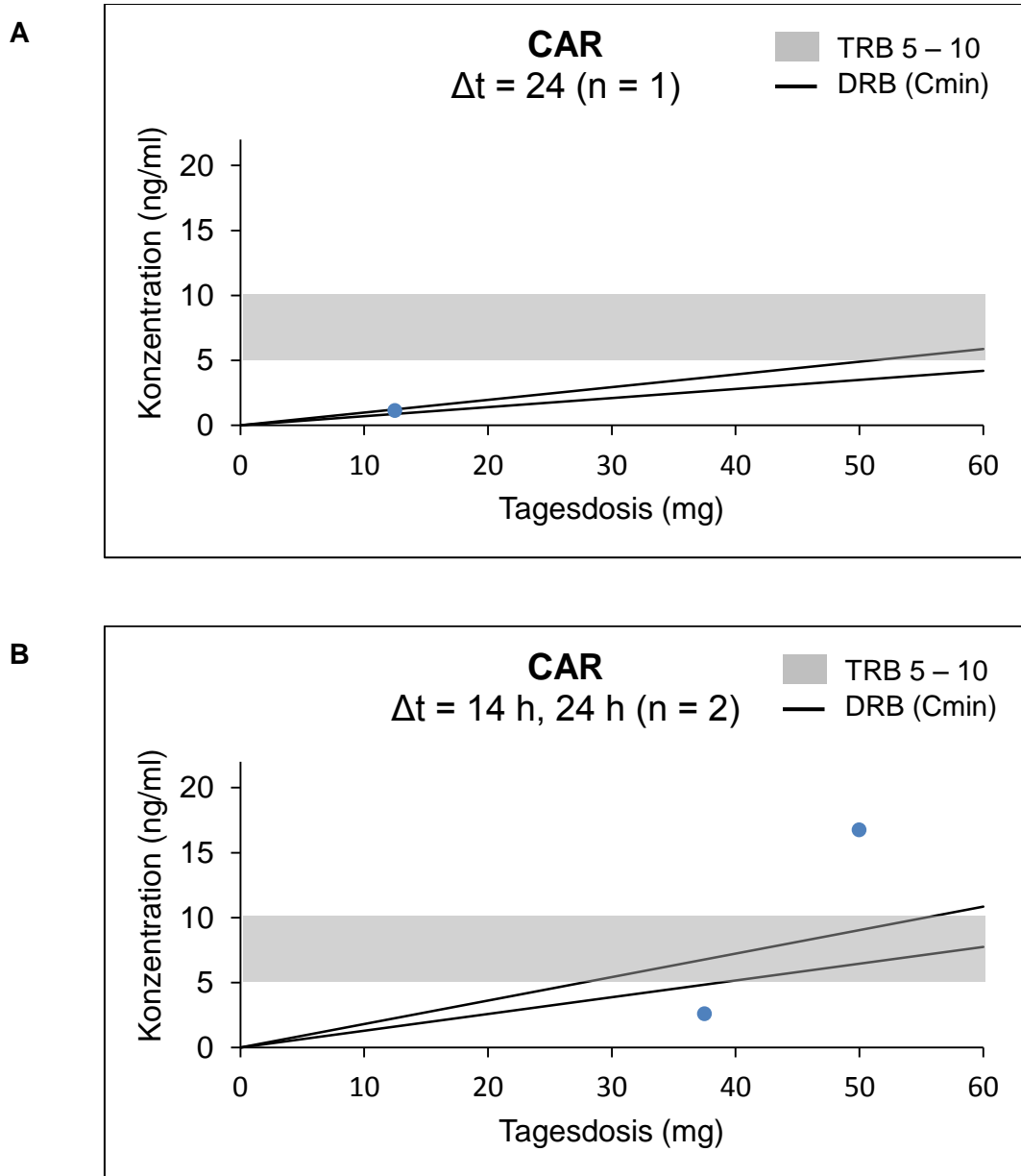


Tab. 60 Neun-Felder-Tafel der gemessenen CAR-Proben mit DRB über C_{av}

CAR (n = 3)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C_{av})	zu niedrig	2 (66,7 %)			2 (66,7 %)
	passend			1 (33,3 %)	1 (33,3 %)
	zu hoch				
	Gesamt	2 (66,7 %)		1 (33,3 %)	

Prozentangaben sind gerundet.

Abb. 44 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen CAR-Proben mit Darstellung von DRB_{min} und TRB



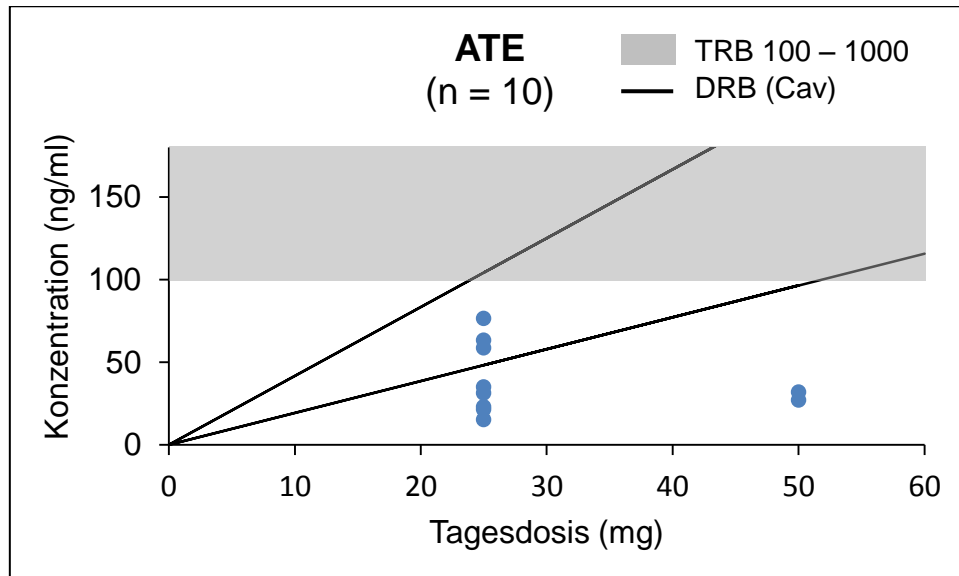
Tab. 61 Neun-Felder-Tafel der gemessenen CAR-Proben mit DRB über C_{min}

CAR (n = 3)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis-bezogener Referenzbereich (C _{min})	zu niedrig	1 (33,3 %)			1 (33,3 %)
	passend	1 (33,3 %)			1 (33,3 %)
	zu hoch			1 (33,3 %)	1 (33,3 %)
	Gesamt	2 (66,7 %)		1 (33,3 %)	

Prozentangaben sind gerundet.

E Konzentrationsbestimmung von Atenolol

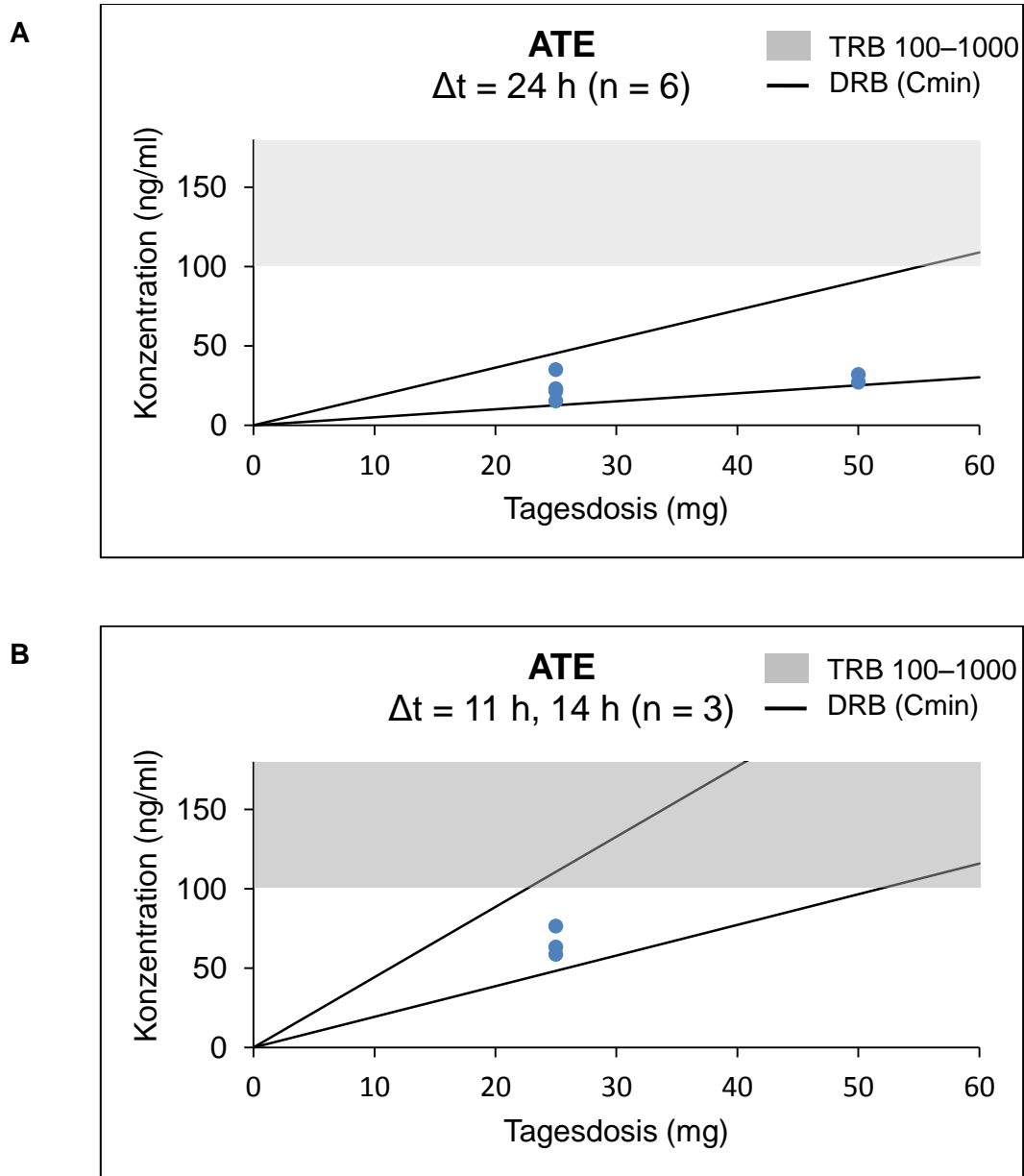
Abb. 45 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen ATE-Proben mit Darstellung von DRB_{av} und TRB



Tab. 62 Neun-Felder-Tafel der gemessenen ATE-Proben mit DRB über C_{av}

ATE (n = 10)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C_{av})	zu niedrig	7 (70 %)			7 (70 %)
	passend	3 (30 %)			3 (30 %)
	zu hoch				
	Gesamt	10 (100 %)			

Abb. 46 Dosis-Konzentrationsbeziehung der gemessenen ATE-Proben mit Darstellung von DRB_{min} und TRB



Tab. 63 Neun-Felder-Tafel der gemessenen ATE-Proben mit DRB über C_{min}

ATE (n = 10)		Therapeutische Referenzbereich			
		zu niedrig	passend	zu hoch	Gesamt
Dosis- bezogener Referenz- bereich (C _{min})	zu niedrig	1 (10 %)			1 (10 %)
	passend	9 (90 %)			9 (90 %)
	zu hoch				
	Gesamt	10 (100 %)			

F Konzentrationbestimmung von Nebivolol und Timolol

Mit der entwickelten Methode konnte bei den Patienten-Proben kein NEB und TIM nachgewiesen werden.

4.4.4.2 Häufigkeit der Tabletteneinnahme und verwendeter Dosis

Tab. 64 und Tab. 65 geben eine Übersicht über die Häufigkeit der Tabletteneinnahme und welche Tagesdosis am meisten Verwendung fand.

Bei BIS nahmen 75,8 % der Patienten einmal täglich den Beta-Blocker ein. Je ein Drittel erhielten 2,5 oder 5 mg. Bei MET wurde jeweils von der Hälfte der Patienten der Blutdrucksenker einmal täglich bzw. zweimal täglich eingenommen. Häufigste Tagesdosis waren 100 mg bei 42 % der Patienten, gefolgt von 50 mg bei 25,9 %. Mehr als die Hälfte der Patienten (54,1 %) erhielten PRO zweimal täglich. Als einziger der betrachteten Beta-Blocker wurde PRO häufig (37,8 %) dreimal täglich oder öfters eingenommen. Häufigste Dosis waren dabei 20 und 30 mg (29,7 % und 24,3 % der Patienten). Bei CAR erhielten zwei Patienten (66,7 %) die Medikation zweimal täglich. Bei ATE wurde von 60 % der Patienten der Beta-Blocker einmal täglich eingenommen. Die am häufigsten eingesetzte Dosis waren 25 mg bei 80 % der Patienten.

Der Großteil der Patienten (81 %) erhielt NEB einmal täglich. Am häufigsten fand eine Dosis von 5 mg Verwendung, gefolgt von 2,5 mg (57,1 und 33,3 %).

Tab. 64 Häufigkeit der Tabletteneinnahme

Analyt	HWZ (h)	Proben-Anzahl	Applikation			
			1x tägl.	2x tägl.	3x tägl.	4x tägl.
BIS	10 - 12	62	75,8 %	22,6 %	1,6 %	
MET	3-4	174	48,9 %	50,6 %	0,6 %	
PRO	3-4	37	8,1 %	54,1 %	35,1 %	2,7 %
CAR	7	3	33,3 %	66,7 %		
ATE	6 - 9	10	60,0 %	40,0 %		
NEB	22	21	81,0 %	19,0 %		
TIM	5,5	7		100,0 %		

Prozentangaben sind gerundet.

Tab. 65 Tagesdosis

BIS	n = 62	Dosis (mg)	1,25	2,5	3,75	5	7,5	10		
		Häufigkeit (%)	6,5	33,9	1,6	33,9	3,2	21,0		
MET	n = 174	Dosis (mg)	25	50	75	100	150	200	300	400
		Häufigkeit (%)	6,9	25,9	12,1	42,0	2,9	9,2	0,6	0,6
PRO	n = 37	Dosis (mg)	10	20	30	40	60	80	160	
		Häufigkeit (%)	5,4	29,7	24,3	16,2	5,4	5,4	10,8	
CAR	n = 3	Dosis (mg)	12,5	37,5	50					
		Häufigkeit (%)	33,3	33,3	33,3					
ATE	n = 10	Dosis (mg)	25	50						
		Häufigkeit (%)	80,0	20,0						
NEB	n = 21	Dosis (mg)	2,5	5	7,5	10				
		Häufigkeit (%)	33,3	57,1	4,8	4,8				
TIM	n = 7	Dosis (Tropfen)	2	4						
		Häufigkeit (%)	85,7	14,3						

Prozentangaben sind gerundet.

5. Diskussion

5.1 Entwicklung einer HPLC-Methode zur Bestimmung von Antipsychotika und β -Adrenozeptor-Antagonisten

Zur Bestimmung von Antipsychotika und β -AR-Antagonisten sind in der wissenschaftlichen Literatur bereits verschiedene Methoden beschrieben. Auch in dem TDM-Routine Labor der Arbeitsgruppe für Klinische Pharmakologie wurden schon seit vielen Jahren erfolgreich Konzentrationsbestimmungen für OLA, CLO und QUE durchgeführt. Für meine Arbeit war jedoch die Entwicklung einer simultanen Bestimmungsmethode notwendig, um sowohl die betrachteten Antipsychotika als auch die β -AR-Antagonisten nebeneinander bestimmen zu können. Ziel dieser Arbeit war es, eine kostengünstige, einfach umsetzbare HPLC-Messmethode zu entwickeln, die an den für unser Routine-Labor zur Verfügung stehenden Geräten durchführbar ist.

5.1.1 Extraktionsmethoden

Die Probenaufarbeitung erfolgte bei der entwickelten Methode über Online-Extraktion. Diese Technik ermöglicht über Säulenschaltung eine automatische Festphasenextraktion mithilfe einer Vorreinigungssäule und anschließender Auftrennung über die Analysensäule. Als Vorreinigungssäule wurde von Merck die LiChrospher® RP-4 ADS (25 x 4,0) Säule verwendet. Ein Vorteil der Online-Methode ist, dass eine Direktbestimmung des Wirkstoffs aus Serum möglich ist, d. h. die Matrix kann ohne weitere Probenvorbereitung direkt injiziert werden. Nachteilig zu bewerten ist die höhere Verunreinigung der Analysensäule durch nicht vollständig abgetrennte Matrixbestandteile, was zu einer kürzeren Lebensdauer der Säule führt.

Als alternative Extraktions-Methoden gibt es z. B. die Proteinfällung, die Flüssig-Flüssig-Extraktion und die Festphasen-Extraktion. Als Offline-Extraktions-Methoden stellen diese alle einen zusätzlichen, zeitaufwendigen Arbeitsschritt dar. Zudem besteht eine größere Gefahr von Substanzverlust durch die mehrschrittige Aufreinigung, weshalb sich häufig die Notwendigkeit ergibt, mit einem Internen Standard zu arbeiten. Als Vorteil ist jedoch die meistens bessere Abtrennung der störenden Matrixbestandteile zu sehen, wodurch eine geringere Belastung der Analysensäule resultiert als bei der beschriebenen Online-Methode. Um die entwickelte Methode in den Routine-Betrieb für TDM integrieren zu können, bei dem ein geringer Zeitaufwand in der Probenvorbereitung von großer Bedeutung ist, wurde die Online-Extraktion mittels Säulenschaltung verwendet. Im Rahmen der Enzym-Experimente

fand zwar eine Proteinfällung mit ACN statt, diese sollte jedoch in erster Linie zur Inaktivierung der CYP-Enzyme und somit zum Abstoppen der Wirkstoffmetabolisierung führen. Ein zusätzlicher Aufarbeitungsschritt über Online-Extraktion wäre somit nicht zwingend nötig und man könnte die Konzentrationen aus den enzymkinetischen Experimenten auch ohne Säulenschalt-Technik bestimmen.

5.1.2 Säulenwahl

Im Laufe der Methodenentwicklung kamen verschiedene Analysensäulen zum Einsatz (siehe Kapitel 4.1.1.1). Aufgrund der lipophilen Eigenschaften der Analyten wurden ausschließlich Säulen für Umkehrphasen-Chromatographie (reversed phase, RP) verwendet. Bei RP-Säulen ist das Kieselgel-Säulenmaterial mit unpolaren Seitenketten modifiziert und weist dadurch hydrophobe Eigenschaften auf. Da MET, BIS und PRO bereits im Rahmen der Interferenzmessungen in der Arbeit von Ralf Köber mit einer Luna Phenyl-Hexyl 3 µm (150 x 3 mm) Analysensäule von Phenomenex nachgewiesen werden konnten, wurde für die ersten Versuche diese Säule verwendet [150]. Aufgrund der geringen Partikelgröße von 3 µm war diese Säule jedoch weniger für Serum-Proben mit Online-Extraktion geeignet. Online-Extraktionen sind hinsichtlich der Aufreinigung weniger effizient als Offline-Aufarbeitungen, so dass neben den Analyten auch immer ein geringer Teil an Matrixbestandteilen auf die Analysensäule eluiert werden kann. Hierbei handelt es sich meist um größere Moleküle wie Proteine, die bei Säulenmaterialien mit einer Partikelgröße von 3 µm zu einem schnelleren Verstopfen der Säule führen können. Des Weiteren erzeugen geringe Partikelgrößen einen höheren Gegendruck. Auch der kleinere Säulendurchmesser kann sich ungünstig auf die Messungen auswirken. Hier kann es leicht zu einer Überladung der Säule kommen, was sich vor allem in Peaktailing auswirken kann. Für eine langlebigere Säule, die besser für Online-Messungen geeignet ist, wurde auf eine höhere Trenneffizienz verzichtet und auf Säulen mit einem Durchmesser von 4,6 mm und 5 µm Partikelgröße gewechselt. Über die Wahl einer längeren Trennsäule (250 mm statt 150 mm) konnte auch die Trennleistung trotz größerer Partikelgröße verbessert werden. Nach Testung diverser Säulenmaterialien wie Octadecylsilan (ODS) und Pentafluorphenyl (PFP) wurde eine Gemini® Phenyl Hexyl 110A 5 µm (250 x 4.6 mm) Säule von Phenomenex verwendet. Das Säulenmaterial besitzt aufgrund der Phenyl-Hexyl-Gruppen eine hohe Affinität zu Aminen und polaren, aromatischen Verbindungen. An den aus sterischen Gründen nicht besetzten Silanolgruppen erfolgte „endcapping“ mit Trimethylsilyl (TMS) um die Hydrophobizität des Säulenmaterials noch zu erhöhen. Der Unterschied zwischen Luna® und Gemini® Phenyl Hexyl- Säulen liegt zum einen in der Kohlenstoffbeladung. Mit einer Kohlenstoffbeladung von 12 % ist die Gemini® Säule laut Herstellerangaben etwas polarer als die Luna® Säule mit

17,5 %. Zum anderen unterscheiden sie sich auch in der pH-Stabilität. Die Gemini® Säule ist über einen pH-Bereich von 1 bis 12 stabil, während sich die Luna® Säule nur von pH 1,5 bis 10 stabil zeigt.

Mit der ausgewählten Gemini Phenyl Hexyl Säule kam es zu einer Überlagerung der Signale von BIS und VEN (siehe Kapitel 4.1.3H). Da BIS und VEN häufig gemeinsam verordnet werden, wurde eine Synergi™ Hydro-RP 80 A 4 µm (250 x 4,60 mm) als Alternativsäule verwendet, um eine Bestimmung von BIS in Gegenwart von VEN zu ermöglichen. Die Synergi™ Hydro-RP Säule besitzt eine hydrophobe C18 Phase, die zu einer starken Retention hydrophober Verbindungen führt. Von der Trennung der Analyten unterscheidet sich die Synergi™ Säule nicht stark von der Gemini® Säule. Bis auf 4-HCAR wurden alle Substanzen in derselben Reihenfolge eluiert. 4-HCAR wurde hier vor CLO und DAQUE eluiert anstelle nach DAQUE (vergleiche Abb. 21 und Tab. 41). Da 4-HCAR ein größeres delokalisiertes π -Elektronensystem aufweist als CLO und DAQUE kann es von der Phenyl-Hexyl-Säule aufgrund der höheren Selektivität für aromatische Verbindungen stärker zurückgehalten werden. Die Trennung von BIS und VEN ist aufgrund der hohen Methylgruppenselektivität der Synergi™ Hydro-RP Säule möglich. VEN enthält in der Struktur eine Dimethylamino-Gruppe und eine Methoxygruppe, während BIS eine Isopropoxyl-Gruppe und eine Isopropylamino-Gruppe aufweist.

5.1.3 Fließmittelzusammensetzung

Die Auswahl der mobilen Phase orientierte sich an der Fließmittelzusammensetzung, welche in unserem TDM-Routine-Labor angewendet wird. Als Fließmittelkomponenten wurde Phosphatpuffer und ACN verwendet. Durch Zusatz von 10 % Methanol zum Phosphatpuffer konnte die Trennung weiter optimiert werden. Da in dieser Arbeit eine große Anzahl von Substanzen mit sehr unterschiedlicher Lipophilie getrennt werden mussten, wurde mit einem ACN-Gradienten gearbeitet. Die ersten acht Minuten wurde isokratisch mit einem ACN-Anteil von 8 % gemessen und über die restlichen 32 min der 40-minütigen Laufzeit der ACN-Gehalt auf 40 % erhöht. Mithilfe des Gradienten wurde eine Elution der sehr lipophilen Wirkstoffe CAR und NEB innerhalb der 40-minütigen Laufzeit ermöglicht. Ein steilerer ACN-Gradient zur Verkürzung der Analysenzeit war aufgrund von Peaküberlagerungen der in ihrer Lipophilie recht ähnlichen Substanzen PRO, CLO, DAQUE und 4-HCAR nicht möglich. Mit einem pH-Wert von 3,1 des Phosphatpuffers mit 10-prozentigen Methanolanteil wurde die beste Trennung erzielt. Bei OLA, DMCLCLO, CLO, DAQUE und QUE waren die Retentionszeiten stark vom pH-Wert abhängig. Dadurch hatte man über pH-Änderungen die Möglichkeit, die Retentionszeiten dieser Substanzen gezielt zu variieren und somit die Trennung zu optimieren. Eine Erniedrigung des pH-Werts führte zu einer Verkürzung der

Retentionszeiten der beschriebenen Antipsychotika, während die Elutionszeiten der anderen Analyten unbeeinflusst blieben.

5.1.4 Validierung

5.1.4.1 Stabilität

Bis auf OLA und DMOLA zeigten sich alle Substanzen bei Raumtemperatur über drei Tage, im Kühlschrank (-6 bis -8 °C) über einen Monat und im Gefrierschrank (-20 °C) über sechs Monate stabil. OLA und DMOLA war bei Raumtemperatur einen Tag und im Gefrierschrank drei Monate stabil. Aufgrund der geringen Stabilität bei Raumtemperatur sollte der Probenversand gekühlt stattfinden und auf eine zügige Konzentrationsbestimmung geachtet werden.

5.1.4.2 Robustheit

Die Robustheit der entwickelten Methode wurde hinsichtlich Veränderungen der Parameter wie Fließgeschwindigkeit, Fließmittelzusammensetzung, pH-Wert und Säulenofentemperatur untersucht. Bei Variationen der Flussrate und des Methanol- als auch des Acetonitril-Gehalts änderten sich die Retentionszeiten bei allen Analyten gleichermaßen. Nur bei einer Änderung der Säulenofentemperatur und des pH-Werts kam es zu Retentionszeitverschiebungen einzelner Substanzen. So wurden bei einer Erniedrigung der Säulenofentemperatur von 30 °C auf 27 °C die Retentionszeiten nur von DIPRO, PRO, 4-HCAR und CAR verlängert. Die Änderung in der Retentionszeit bei PRO führte sogar zu einer Überlagerung von PRO mit dem CLO-Peak. Eine Erniedrigung des pH-Werts führte zu einer Verkürzung der Elutionszeiten von OLA, DMCLC, CLO, DAQUE und QUE. Mit Ausnahme des Methanolgehalts und der pH-Wert-Einstellung werden die Parameter über die HPLC-Anlage reguliert. Daher sind bei diesen Parametern kaum Abweichungen zu erwarten. Die beobachtete Abhängigkeit der Retention von DIPRO, PRO, 4-HCAR und CAR auf Änderungen der Säulenofentemperatur wird somit mit großer Wahrscheinlichkeit kein Problem darstellen. Bei Einstellung des pH-Werts muss jedoch sehr genau gearbeitet werden, da schon eine Änderung des pH-Werts um 0,05 zu einem schlechteren Trennergebnis führen kann (siehe Tab. 34 und Abb. 16). Es besteht jedoch auch die Möglichkeit die Methode zu teilen, falls die kritischen Substanzen (CLO und DAQUE), die bei ungenau eingestelltem pH-Wert zu Überlagerung neigen, nicht in einer Methode bestimmt

werden müssen. Hierfür kann man Standards herstellen, mit denen kein QUE bzw. DAQUE bestimmt wird und umgekehrt Standards, die kein CLO enthalten.

5.1.4.3 Selektivität

Zur Bestimmung der Selektivität wurde die entwickelte Methode auf 99 Interferenzsubstanzen getestet. Von einer eventuellen Peaküberlagerung betroffen sind: Lamotrigin mit MET, Venlafaxin, Paliperidon und Melperon mit BIS, Omeprazol (Peak 2) mit DMCLO, Omeprazol (Peak 4) mit CLO, Pantoprazol (Peak 2) mit 4-HCAR, Oxcarbamazepin, Clozapin-N-oxid und Mianserin mit QUE, Carbamazepin, Nortriptylin mit CAR und Aripiprazol, Fluoxetin, Amitriptylin mit NEB. Für den Fall von auftretenden Interferenzen kann die entwickelte Alternativmethode genutzt werden (siehe 4.1.4.1). Unter diesen Messbedingungen war eine Trennung der überlagernden Wirkstoffe mit Ausnahme von Omeprazol möglich. Hier kam es zu einer Interferenz zwischen dem Peak 2 von Omeprazol mit DMCLO und zwischen Peak 3 mit DAQUE. Auch wenn bei dieser Methode die Selektivität deutlich besser ist als bei der validierten Methode, wurde sie aufgrund der längeren Laufzeit von 65 min im Vergleich zu 40 min nur als Ersatzmethode verwendet.

5.2 Enzymkinetische Experimente

5.2.1 Vergleich des Abbaus über die verschiedenen CYP-Isoformen

In den Experimenten mithilfe der jeweiligen CYP-Isoformen, die nach KONBEST® an der Metabolisierung der verschiedenen Wirkstoffe beteiligt sind, erfolgte bei CLO die Biotransformation am stärksten über CYP2D6. Dann folgten CYP1A2 und CYP3A4, während der Abbau über CYP2C19, CYP2C8 und CYP2C9 geringer ausgeprägt war (siehe Kapitel 4.2.1.1 Abb. 24 A). In der Literatur wird jedoch CYP1A2 und CYP3A4 die größte Bedeutung am Abbau von CLO zugesprochen [54]. Linnet und Olesen (1997) konnten neben CYP1A2 und CYP3A4 auch eine Beteiligung der Isoformen CYP2C9, CYP2C19 und CYP2D6 beobachten [55]. Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten nur einen geringen Abbau über CYP2C9 und CYP2C19 bestätigen. Auch CYP2C9 Polymorphismen zeigten keinen Einfluss auf die CLO-Konzentration [59, 61]. Daher ist anzunehmen, dass CYP2C9 eher eine untergeordnete Rolle im Metabolismus von CLO spielt. Uneinheitlich ist die Datenlage bezüglich CYP2C19. Während Jaquenoud Sirot et al. (2009) der Isoform CYP2C19 gemeinsam mit CYP1A2 sogar den Hauptanteil an der Biotransformation von CLO zusprach, konnte Dahl et al. (1994) durch Polymorphismen des CYP2C19 keine Auswirkungen auf die Pharmakokinetik von CLO feststellen [61]. Ungewöhnlich ist die in dieser Arbeit beobachtete starke Metabolisierung von CLO über CYP2D6. Die Isoform CYP2D6 wird in der Literatur zwar als Abbauenzym von CLO beschrieben [6, 57], aber nur mit einem Anteil an der Metabolisierung von 6 % [154] und des Weiteren konnten verschiedene Studien bei CYP2D6-Polymorphismen keine Auswirkungen auf die CLO-Konzentration beobachten [59–61]. Das lässt auf eine geringe Beteiligung von CYP2D6 am Metabolismus von CLO schließen. Die in diesen Experimenten vergleichsweise starke Biotransformation über CYP2D6 ist vermutlich durch die höhere Enzymaktivität von CYP2D6 im Vergleich zu CYP3A4 und CYP1A2 erklärbar. In humanen Leberzellmikrosomen und *in-vivo* entspricht der CYP2D6-Anteil am gesamten CYP-Gehalt nur ein Fünfzehntel des CYP3A4-Gehalts und ein Sechstel des CYP1A2-Anteils. In diesen Versuchen wurden die Isoformen jedoch in gleichen Konzentrationen eingesetzt, wodurch der Eindruck gewonnen wird, dass die Isoform CYP2D6 einen größeren Einfluss am Metabolismus von CLO hat als CYP1A2 und CYP3A4. QUE wurde von CYP3A4 und fast im selben Ausmaß von CYP2D6 verstoffwechselt. Der nur geringfügig schwächere Abbau von QUE über CYP2D6 im Vergleich zu CYP3A4, obwohl CYP3A4 eine Beteiligung von über 89 % am Gesamtmetabolismus zugesprochen wird und CYP2D6 somit eine geringere Rolle spielen müsste [155], ist vermutlich wie bei CLO auf die

unterschiedliche Enzymaktivität und dem ungleichen Anteil am gesamten CYP-Gehalt der Isoformen zurückzuführen.

MET wurde ausgeprägt über CYP2D6 metabolisiert. Über CYP2C19 und CYP3A4 fand kein nennenswerter Abbau statt. Auch in der Literatur wird CYP2D6 die entscheidende Rolle in der Biotransformation von MET zugesprochen [90–92].

Der Abbau von PRO erfolgte am deutlichsten über CYP2D6 und in geringerem Ausmaß über CYP1A2. Über CYP3A4, CYP2C19 und CYP2C9 wurde PRO nur unbedeutend metabolisiert. Die Resultate decken sich mit den Ergebnissen von Yoshimoto et al. (1995), der keinen bedeutenden Einfluss auf den Metabolismus von PRO unter gleichzeitiger Gabe von CYP3A4-, CYP2C19- und CYP2C9-Hemmstoffen beobachten konnte und dadurch eine Beteiligung dieser Isoenzyme für unwahrscheinlich hält [100]. Diese Beobachtungen stehen im Widerspruch zu Shimizudani et al. (2010), der eine Beteiligung von CYP2C9 und CYP2C19 an der N-Desisopropylierung und von CYP3A4 an der Hydroxylierung von PRO vermutet [99]. Auch McGinnity et al. (2000) sieht CYP2C19 in der Metabolisierung von PRO involviert [156].

CAR wurde bei den Experimenten von den in dieser Arbeit betrachteten Enzymen in absteigendem Ausmaß metabolisiert: CYP2D6 > CYP1A2 > CYP2C9 > CYP3A4 > CYP2C8. Mit einem Abbau über CYP2C8 von nur circa 4 % der Ausgangskonzentration spielte diese Isoform jedoch nur eine untergeordnete Rolle. Die Beobachtungen stimmen mit den Ergebnissen der Literatur überein. Oldham and Clarke (1997) sahen in CYP2D6, CYP1A2 und CYP2C9 die Hauptabbauenzyme. Zu geringen Teilen sind auch CYP3A4, CYP1A1, CYP2C19 und CYP2E1 an der Biotransformation von CAR beteiligt [22]. Inwiefern die in der Literatur beschriebenen Isoenzyme CYP1A1, CYP2E1 und CYP2C19 in dem Metabolismus von CAR involviert sind, wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht.

Bei NEB waren CYP2D6 und in geringerem Ausmaß CYP3A4 an der Metabolisierung beteiligt. Bisher wurde nur von Kamali et al. (1997) eine Beteiligung von CYP3A4 an der Biotransformation von NEB vermutet [107], während sonst nur CYP2D6 für den Metabolismus verantwortlich gehalten wurde [17, 18, 80, 157]. Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten nun zeigen, dass neben CYP2D6 tatsächlich auch CYP3A4 zum Abbau von NEB beiträgt.

Zu beachten gilt, dass die Experimente mit rekombinanten CYP-Isoformen nicht wiedergeben, welchen Anteil welche Isoform an der Metabolisierung des Substrats trägt, da in diesen Versuchen die Isoformen zu gleichen Konzentrationen eingesetzt wurden. Bei *in-vivo* Versuchen bzw. Experimenten mit humanen Leberzellmikrosomen haben die einzelnen Isoformen einen unterschiedlichen Anteil an dem gesamten CYP-Gehalt (siehe Kapitel 1.3.3 Abb. 12). Auch die verschieden starke Enzymaktivität der einzelnen Isoformen lässt eine

direkte Vergleichbarkeit nicht zu. Die Experimente mit rekombinanten CYP-Isoformen sind dennoch von Bedeutung für die Aufklärung, ob die jeweilige Isoform überhaupt in der Lage ist diesen Wirkstoff zu metabolisieren. Das wird relevant, wenn Isoformen, die normalerweise für die Biotransformation dieses Wirkstoffs verantwortlich sind, z. B. durch die Comedikation inhibiert werden. Dann kann die Metabolisierung über einen alternativen Abbauweg erfolgen, der sonst nur eine untergeordnete Rolle spielt.

5.2.2 Einfluss der β -Adrenozeptor-Antagonisten auf den Metabolismus der Antipsychotika

5.2.2.1 Metabolisierung über humane Leberzellmikrosomen

Bei den Versuchen mit humanen Leberzellmikrosomen zeigte sich nur in Kombination mit CAR ein verlangsamter Abbau der Antipsychotika (siehe Kapitel 4.2.2.1, Abb. 26). In Kombination mit den zwei CYP2D6-Inhibitoren MET und PRO, bei denen ein Hemmeffekt zu erwarten wäre, konnte kein Einfluss auf den Metabolismus der Antipsychotika beobachtet werden. Die Versuche mit rekombinanten CYP2D6 bestätigten jedoch, dass MET und PRO inhibierende Eigenschaften auf CYP2D6 haben (siehe Kapitel 4.2.2.2, Abb. 27). Vermutlich kommt dieser Hemmeffekt bei den Versuchen mit humanen Leberzellmikrosomen nicht zum Tragen, da CYP2D6 am Metabolismus der Antipsychotika eher eine untergeordnete Rolle spielt und der Abbau dann vermehrt über die anderen Stoffwechselwege erfolgt. Bei QUE läuft der Hauptabbauweg über CYP3A4 mit einem Anteil von ca. 89 %, CYP2D6 hat somit nur einen geringen Anteil an der Biotransformation [155]. CYP2D6-Hemmstoffe wie Cimetidin, Haloperidol, Risperidon und Imipramin zeigten keinen signifikanten Effekt auf die Clearance von QUE, während der CYP3A4 Hemmstoff Ketoconazol und die CYP3A4 Induktoren Phenytoin und Thioridazin zu einer verringerten bzw. erhöhten Clearance von QUE führten [70]. Auch bei CLO hat CYP2D6 mit 6 % nur einen geringen Anteil am Metabolismus und CYP2D6-Polymorphismen zeigten keinen Einfluss auf die Clearance [59, 154]. Hauptabbauweg ist CYP1A2 mit einem Anteil von 30 % [154], nach Zhou et al. (2009) sogar ein Anteil von 40 – 55 % [158]. Weitere Abbauwege sind CYP2C19, CYP3A4 und CYP2C9 [154]. Wie bei CLO hat auch bei OLA die Isoform CYP1A2 die größte Bedeutung an dessen Metabolismus (Anteil von 30 – 40 %) und CYP2D6 spielt eine untergeordnete Rolle [14, 159]. CYP2D6 Genotypen haben keinen Einfluss auf die Clearance von OLA [160]. Die Beobachtungen, dass bei allen drei Antipsychotika die Isoform CYP2D6 nur eine untergeordnete Rolle am Metabolismus spielt und CYP2D6-Polymorphismen in der Regel

keine Auswirkungen auf deren Clearance haben, stimmen mit den Ergebnissen dieser Arbeit überein. Hier zeigten die CYP2D6-Hemmstoffe MET und PRO keinen Effekt auf den Abbau der Antipsychotika.

Überraschend war der verlangsamte Abbau von CLO und QUE in Kombination mit CAR im Vergleich zur Metabolisierung von CLO und QUE allein. Nach meinem Kenntnisstand sind bisher in der Literatur keine enzymhemmenden Eigenschaften von CAR beschrieben worden, worüber der inhibierte Abbau von CLO und QUE erklärt werden könnte.

5.2.2.2 Metabolisierung über rekombinante CYP2D6-Isoenzyme

In den Versuchen mit rekombinanten CYP2D6-Isoenzymen wurde der Abbau von CLO und QUE durch alle vier β -AR-Antagonisten gehemmt (siehe Kapitel 4.2.2.2 Abb. 27). Nach derzeitigem Kenntnisstand sind diese Ergebnisse die ersten, die NEB und CAR als CYP2D6-Hemmstoffe beschreiben. NEB zeigte die stärkste inhibierende Wirkung, gefolgt von CAR und PRO. MET hatte den schwächsten Hemmeffekt. In Kombination mit QUE und CLO war eine unterschiedlich stark ausgeprägte Hemmung des Abbaus der zwei Antipsychotika durch MET zu beobachten. Der Abbau von CLO wurde weniger stark gehemmt, als der von QUE. In der Literatur sind die Daten bezüglich MET als CYP2D6-Hemmstoff uneinheitlich. Während in einigen Studien MET als schwacher Inhibitor charakterisiert wurde [8, 9, 11], konnte in anderer Literatur kein Hemmeffekt festgestellt werden [10, 12, 13]. Möglicherweise ist die Stärke der Enzyminhibierung durch MET vom Kombinationspartner abhängig. Bei einer kompetitiven Hemmung stehen die Substrate in Konkurrenz um die Besetzung des aktiven Zentrums am Enzym, wodurch die Affinität der anderen Substanz zur Bindungsstelle eine entscheidende Rolle spielt. Je nachdem welcher Wirkstoff die höhere Affinität hat, wird dieser bevorzugt umgesetzt, wodurch der Abbau der anderen Substanz verlangsamt wird. Versuche mit verschiedenen Substraten und auch in unterschiedlichen Konzentrationen können dann zu uneinheitlichen Ergebnissen führen.

5.2.2.3 Ermittlung der CYP-Isoenzyme, die durch CAR gehemmt werden

Da bei den Versuchen an HLM selbst die bekannten CYP2D6-Inhibitoren MET und vor allem PRO keine Beeinflussung des Abbaus der Antipsychotika zeigten, ist zu vermuten, dass CAR neben CYP2D6 auch weitere CYP-Isoformen hemmt, die am Metabolismus der betrachteten Antipsychotika beteiligt sind. Die Experimente an rekombinanten CYP-Isoenzymen zeigten, dass CAR nicht nur den Abbau von QUE und CLO über CYP2D6 hemmt (siehe auch 5.2.2.2), sondern zusätzlich auch die Metabolisierung von QUE über

CYP3A4 und von CLO über CYP3A4 und CYP1A2. CYP3A4 stellt mit einem Anteil von 89 % am Metabolismus von QUE das Hauptabbauenzym dar [155]. Der Hauptabbauweg von CLO verläuft über CYP1A2 mit einem Anteil von 30 % [154], nach Zhou et al. (1990) sogar mit einem Anteil von 40 – 55 % [158]. Weitere Abbauwege sind CYP2C19, CYP3A4 und CYP2C9 [154].

Nach meinem Kenntnisstand ist derzeit noch keine Literatur verfügbar, die enzymhemmende Eigenschaften von CAR beschreibt. Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten erstmals zeigen, dass CAR ein Hemmstoff von CYP2D6 (stärker als MET und PRO), CYP1A2 und CYP3A4 ist (siehe Kapitel 4.2.2.2 und 4.2.2.3).

5.2.2.4 Pharmakokinetische Interaktion von CAR mit CLO und QUE in therapeutischen Konzentrationen

In den bisherigen Experimenten, die eine blockierende Wirkung des Abbaus der Antipsychotika durch CAR zeigten (siehe Kapitel 4.2.2.1), wurde sowohl CLO und QUE als auch CAR mit einer Stoffmengenkonzentration von 10 µM eingesetzt. Um die klinische Relevanz der Enzymhemmung von CAR zu untersuchen, wurde für einen Vergleich der eingesetzten Konzentration mit dem TRB die Stoffmengenkonzentration in die Massenkonzentration umgerechnet. Die eingesetzten 10 µM Substrat ergaben eine Massenkonzentration von 4065 ng/ml bei CAR, von 3268 ng/ml bei CLO und von 3835 ng/ml bei QUE. Im Vergleich mit den therapeutischen Referenzbereichen lagen die in den Experimenten verwendeten Konzentrationen bei CLO um das 5,4- bis 9,3-Fache und bei QUE um das 7,7- bis 38,3-Fache über den Konzentrationen, die bei Patienten zu erwarten sind. Bei CAR war die eingesetzte Konzentration im Vergleich zum TRB sogar um das 407- bis 813-Fache erhöht. Zur Untersuchung, ob in therapeutischen Konzentrationen die enzymhemmende Wirkung von CAR noch zum Tragen kommt, wurden Konzentrationen eingesetzt, die den jeweiligen TRB abdecken. Da sich der TRB in der Regel auf die Serumkonzentrationen nach der Leberpassage bezieht, wurde der TRB mit der Bioverfügbarkeit korrigiert, um Konzentrationen zu erhalten, die die Situation vor dem First-pass-Effekt widerspiegeln (siehe Tab. 21). Die Konzentrationen der unteren und oberen Grenze der TRB der Antipsychotika wurden jeweils mit den Konzentrationen der unteren und oberen Grenze des TRB von CAR kombiniert.

Auch in therapeutischen Konzentrationen wurde der Abbau von CLO und QUE von CAR gehemmt. Bei CLO wurde der Metabolismus kaum inhibiert und nur in der geringsten CLO-Konzentration (600 ng/ml) in Kombination mit der höchsten CAR-Konzentration (40 ng/ml) war der Unterschied zum Abbau von CLO allein signifikant ($p < 0,05$). Bei QUE hingegen war der Hemmeffekt durch CAR in jeder Konzentrationskombination statistisch signifikant

($p < 0,001$). Die Hemmstärke zeigte sich konzentrationsabhängig. Bei CLO war unter Umständen der Hemmeffekt nicht so stark ausgeprägt, da CLO in den Experimenten deutlich langsamer metabolisiert wurde als QUE. Während bei QUE in einer Stärke von 1000 ng/ml nach 60 min noch 6 % ($\pm 0,8$ %) und bei 5500 ng/ml 55 % ($\pm 0,7$ %) der Ausgangskonzentration vorhanden war, lagen von CLO bei einer eingesetzten Konzentration von 600 ng/ml noch 70 % ($\pm 12,2$ %) und bei 1200 ng/ml noch 78 % ($\pm 7,8$ %) vor. Vermutlich wäre der Unterschied deutlicher, wenn der Versuch über eine längere Zeitdauer durchgeführt worden wäre. Die Experimente zeigten, dass auch in therapeutischen Konzentrationen es vor allem bei QUE zu einer pharmakokinetischen Interaktion aufgrund von Enzyminhibition durch CAR kommen kann. Sollte QUE oder CLO bei einem Patienten gemeinsam mit CAR verabreicht werden, ist eine Kontrolle der Serumkonzentrationen und gegebenenfalls eine Dosisanpassung zu empfehlen.

5.2.3 Einfluss der Antipsychotika auf den Metabolismus der β -Adrenozeptor-Antagonisten

5.2.3.1 Metabolisierung über humane Leberzellmikrosomen

In den Experimenten mit humanen Leberzellmikrosomen konnte kein Hemmeffekt auf den Abbau der β -AR-Antagonisten durch die Antipsychotika festgestellt werden. Eine Beeinflussung der Metabolisierung wäre durch CLO zu erwarten gewesen, bei dem man von einer CYP2D6-Hemmung ausgeht [6, 7]. Da es sich bei CYP2D6 um das Hauptabbauenzym der β -AR-Antagonisten handelt, würde man hier einen deutlicheren Effekt durch CYP2D6-Hemmung erwarten als bei den Antipsychotika. Zudem führten CYP2D6-Hemmstoffe wie Cimetidin und Chinidin zu erhöhten Konzentrationen von MET, PRO, CAR und NEB [105, 107, 159, 161–163]. Da in der vorliegenden Arbeit jedoch kein verlangsamter Abbau beobachtet werden konnte, ist anzunehmen, dass der Hemmeffekt durch CLO nur sehr gering ausgeprägt ist.

5.2.3.2 Metabolisierung über rekombinante CYP2D6- und CYP1A2-Isoenzyme

Auch in den Experimenten mit rekombinanten CYP2D6-Isoenzymen zeigte CLO keinen starken Hemmeffekt auf die CYP2D6-Aktivität. CLO erhöhte geringfügig die Konzentration von MET und PRO. Die Metabolisierung von CAR und NEB blieb durch CLO unbeeinflusst.

Wie entsprechend der Literatur zu erwarten ist, zeigte QUE keine CYP2D6-hemmende Eigenschaften [67].

OLA, welches als CYP1A2-Inhibitor beschrieben wird [164], verlangsamte geringfügig den Abbau von CAR. Der Metabolismus von PRO zeigte sich in Kombination mit OLA unverändert, obwohl bei PRO CYP1A2 mit 30 – 50 % einen höheren Anteil am Metabolismus hat als bei CAR (5 – 10 %) [158]. Bei der Probenentnahme nach 15 min und nach 90 min war der Unterschied zwischen der Metabolisierung von CAR allein und in Kombination mit OLA jedoch nicht signifikant, welcher wenn überhaupt nur für eine geringfügige CYP1A2-hemmende Wirkung von OLA spricht. Zudem existiert auch Literatur, in der bei OLA keine CYP-inhibierende Eigenschaften festgestellt werden konnten [14].

5.2.4 Eignung eines Arzneistoffs für Experimente mit humanen Leberzellmikrosomen oder rekombinanten CYP-Isoformen abhängig vom Ausmaß des First-Pass-Effekts und der Halbwertszeit

OLA und BIS wurden unter meinen Versuchsbedingungen nur zu ca. 5 % metabolisiert (siehe Kapitel 4.2.2.1 Abb. 26 und Kapitel 4.2.3.1 Abb. 32). Mit einer Bioverfügbarkeit von 90 % liegt der Abbau von BIS über die Leber nur bei ca. 10 % [86]. Der First-Pass-Effekt von OLA mit 40 % ist zwar größer als der von BIS, allerdings ist vermutlich aufgrund der langen Halbwertszeit von 33 Std (21 – 54 Std) ebenfalls kaum ein Abbau unter den vorliegenden Versuchsbedingungen möglich [14]. In mikrosomalen Untersuchungen weisen die CYP-Enzyme nur eine beschränkte Langzeitstabilität auf, weshalb keine Versuche über einen längeren Zeitraum als 90 min durchgeführt wurden. Die restlichen Substanzen hatten einen deutlich höheren First-Pass-Effekt und eine geringere HWZ als BIS und OLA und zeigten sich für die mikrosomalen Experimente geeigneter.

5.3 KONBEST®-Auswertung

Bei dem Arzneiverordnungs-Report 2010 war MET mit 45,6 % der am häufigsten verordnete β -AR-Antagonist, während die KONBEST®-Auswertung ergab, dass BIS mit 45 % am meisten verordnet wurde (siehe Kapitel 4.3). Bei der Datenbank KONBEST® wurden nur psychiatrische Patienten erfasst, die häufig eine Polymedikation erhalten. Aus diesem Grund wurde vermutlich bevorzugt das interaktionsärmere BIS anstelle von MET eingesetzt. Zum einen ist BIS aufgrund des geringen First-Pass-Effekts von circa 10 % selber weniger anfällig für pharmakokinetische Interaktionen und zum anderen ist bei BIS keine CYP2D6-inhibierende Wirkung bekannt, wodurch BIS in Kombination mit CYP2D6-Substraten ein geringeres Interaktionspotential aufweist im Vergleich zu anderen β -AR-Antagonisten wie MET, PRO, NEB oder CAR (siehe Kapitel 4.2.2.2) [8, 86]. Des Weiteren wird bei Tachykardien, ausgelöst durch Antidepressiva oder Antipsychotika, die Gabe von BIS empfohlen, das ebenfalls zum höheren Einsatz von BIS anstelle MET bei psychiatrischen Patienten führen könnte [42]. Auch die Verwendung des hydrophilen ATE, welches fast ausschließlich renal eliminiert wird, wäre bei Polymedikation geeignet [152]. Der Einsatz von ATE ist jedoch noch nicht stark verbreitet. Die Daten zeigten, dass ATE beim Arzneiverordnungs-Report einen Anteil von 3,2 % und bei der KONBEST®-Auswertung einen Anteil von 1,8 % der betrachteten β -AR-Antagonisten hat (siehe Kapitel 4.3). Auffällig war der hohe Anteil von PRO mit 14,9 % bei der KONBEST®-Auswertung im Vergleich zu 1,1 % bei den Ergebnissen des Arzneiverordnungs-Reports (siehe Kapitel 4.3). Als einziger der untersuchten β -AR-Antagonisten hat PRO eine Zulassung für das primäre Angstsyndrom [76]. Auch die Anwendung von PRO bei Akathisie, die unter bestimmten Antipsychotika als UAW auftritt, könnte die stärkere Verwendung von PRO in der Psychiatrie erklären [165, 166]. Bei dem Arzneiverordnungs-Report 2010 hatte CAR einen Anteil von 5,4 %, während bei der KONBEST®-Auswertung CAR einen Anteil von 1,5 % der betrachteten β -AR-Antagonisten hatte (siehe Kapitel 4.3). CAR weist unter den untersuchten β -AR-Antagonisten das höchste Interaktionspotential auf, da es neben CYP2D6 auch CYP1A2 und CYP3A4 inhibiert (siehe Kapitel 4.2.2.3). Auch wenn nur ein verhältnismäßig geringer Prozentsatz an Patienten CAR einnimmt, sollte bei diesen Patienten besonders auf das Auftreten von pharmakokinetischen Interaktionen und UAW geachtet werden.

Zu beachten gilt, dass die Daten der KONBEST®-Auswertung über den Zeitraum 2005 bis 2014 erhoben wurden, während die Daten des Arzneiverordnungs-Reports nur aus einem Jahr stammten. Über die Wahl des Jahres 2010 wurde ungefähr die Mitte der Entwicklungen über die 9 Jahre dargestellt.

5.4 Therapeutisches Drug Monitoring von β -Adrenozeptor-Antagonisten

5.4.1 Beurteilung der Serumkonzentrationen hinsichtlich des dosisbezogenen Referenzbereichs

5.4.1.1 Konzentrationsbestimmung von Bisoprolol

Bei einem Großteil der BIS-Proben lagen die Konzentrationen über dem DRB. 53,2 % der Proben lagen über dem DRB_{av} und 80,6 % über dem DRB, ermittelt über C_{min} (siehe Tab. 52 und Tab. 53).

Die im Bezug zur Dosis erhöhten Konzentrationen sind vermutlich nicht auf pharmakokinetische Interaktionen oder auf einen langsamen Metabolisierungsstatus zurückzuführen, da nur ca. 10 % der Dosis dem First-Pass-Effekt unterliegen [86]. Die geringe Anfälligkeit von BIS gegenüber Arzneimittelinteraktionen wurde klinisch mit dem potenten Enzyminhibitor Cimetidin demonstriert, welcher die beiden Abbauenzyme von BIS CYP2D6 und CYP3A4 hemmt [167]. Die gleichzeitige Gabe von Cimetidin führte zu keinen signifikanten Änderungen in der Pharmakokinetik von BIS [168].

Die im Bezug zur Dosis erhöhten Konzentrationen sind vermutlich auf eine alters- und geschlechtsbedingte abweichende Clearance und/oder Bioverfügbarkeit zurückzuführen. Die Clearance- und Bioverfügbarkeitsdaten, die der Berechnung des DRB zugrunde liegen, stammten von 12 Probanden, bei denen es sich um gesunde, ausschließlich männliche Freiwillige handelte mit einem durchschnittlichen Alter von 37 ± 12 Jahren [169]. Das Patientenkollektiv der gemessenen BIS-Proben umfasste allerdings unterschiedlichste Altersklassen und neben Männern auch Frauen. Zwischen Männern und Frauen existieren geschlechtsspezifische Unterschiede in der Resorption, Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung [131, 170]. Die gemessenen Proben stammten von Patienten mit einem Alter von 23 bis 90 Jahren. Nur 8 der 62 Patienten lagen in dem Bereich von 37 ± 12 Jahren. 51 Patienten (82,3 %) waren älter als 49 Jahre (Daten nicht gezeigt). Der Großteil der Patienten hatte somit ein höheres Alter als die Probanden in der Studie von Leopold et al. (1986).

Die Abweichungen der Serumkonzentrationen vom DRB lassen sich vermutlich durch die alters- und geschlechtsbedingten Unterschiede in der Pharmakokinetik erklären.

5.4.1.2 Konzentrationsbestimmung von Metoprolol

Auch bei MET lag der Hauptanteil der Proben oberhalb des DRB. Fasst man die Ergebnisse von MET-tartrat und MET-succinat zusammen, wurde der DRB_{av} von 58,1 % der Proben und der DRB_{min} sogar von 93,7 % der Proben überschritten (siehe Tab. 54 - Tab. 57). Aufgrund der kurzen Halbwertszeit von drei bis vier Stunden würde man erwarten, dass der DRB_{av} für MET zu hoch angesetzt ist und ein Großteil der Serumkonzentrationen fälschlicherweise unter dem DRB_{av} liegt. Bei MET ist jedoch zu beachten, dass Fertigarzneimittel mit unterschiedlichem Freisetzungsverhalten eingesetzt werden. Es gibt schnell freisetzende Präparate, Retardpräparate mit einer Freisetzungskinetik erster Ordnung und Retardpräparate mit einer Freisetzungskinetik nullter Ordnung.

Aus den Angaben zur Medikation im Anforderungsbogen ist jedoch nicht immer ersichtlich welches Präparat bei dem entsprechenden Patienten eingesetzt wurde. Eine Unterscheidung von MET-succinat und MET-tartrat ist zumindest aufgrund der unterschiedlichen Dosis möglich. MET-succinat wird mit 23,75 mg, 47,5 mg, 95 mg, 142,5 mg und 190 mg eingesetzt, während MET-tartrat mit 50 mg, 100 mg und 200 mg Anwendung findet [171]. Bei 85,6 % der gemessenen Proben handelte es sich um das MET-succinat (siehe Tab. 68). Während MET-succinat ausschließlich in Retardpräparaten mit einer Freisetzungskinetik nullter Ordnung eingesetzt wird, gibt es mit MET-tartrat alle drei Varianten des Freisetzungsverhaltens [171]. Da der DRB_{min} von MET-tartrat-Proben ungefähr im gleichen Ausmaß wie von MET-succinat-Proben überschritten wurde (92,3 % und 93,9 %, siehe Tab. 55 und Tab. 57) ist davon auszugehen, dass MET-tartrat hauptsächlich als Retardpräparat verwendet wurde.

Der Unterschied im Konzentrationsverlauf von schnell freisetzenden und retardierten Präparaten ist über den Vergleich der mittleren Plasmakonzentrationen von retardiertem MET-succinat (Beloc®-Zok) und unretardiertem MET-tartrat (Beloc®) in Abb. 47 dargestellt.

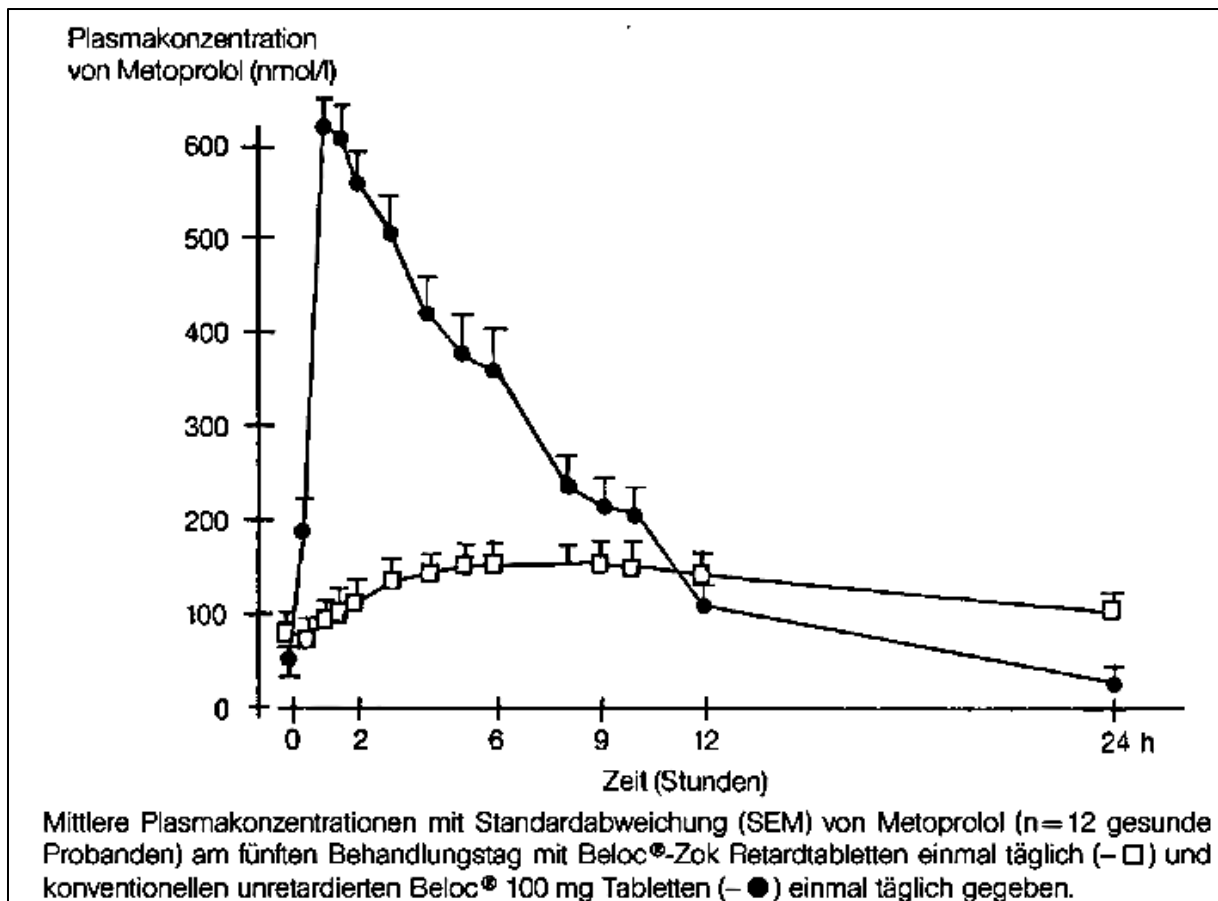


Abb. 47 Vergleich der mittleren Plasmakonzentrationen von Beloc®-Zok und unretardiertem Beloc®

Entnommen aus der Fachinformation Beloc®-Zok (Stand 2014) [74]

Die Freisetzung von MET aus der retardierten Form im Vergleich zum unretardierten Präparat erfolgte wesentlich langsamer und konstant über ca. 20 Stunden [74]. Ab ca. 12 Stunden nach Applikation zeigten die Probanden unter retardiertem MET höhere Plasmakonzentrationen als unter dem unretardierten Präparat (siehe Abb. 47).

Aufgrund der gleichmäßigen Wirkstofffreisetzung bei Retardpräparaten ist hier die Auswertung über DRB_{av} sinnvoller. Über die verzögerte Wirkstofffreisetzung werden Konzentrationsspitzen und -minima abgeschwächt und konstante Wirkstoffkonzentrationen erreicht, die der mittleren Tageskonzentration C_{av} entsprechen. Das zeigten auch die Ergebnisse dieser Arbeit. Bei MET-succinat, welches ausschließlich retardiert eingesetzt wird, wurde der DRB_{min} von 93,9 % der Proben überschritten (siehe Tab. 57), während über dem DRB_{av} nur 56,8 % der Proben lagen (siehe Tab. 56). Bei MET-tartrat befanden sich 92,3 % der Proben über den DRB_{min} (siehe Tab. 55) und 65,4 % der Proben lagen über den DRB_{av} (siehe Tab. 54).

Ein Grund für das Überschreiten des DRB_{av} von mehr als der Hälfte der MET-succinat- und MET-tartrat-Proben könnte in Arzneimittelinteraktionen zu sehen sein. Bei 77,6 % der MET-Proben, die den DRB_{av} überschritten war ein CYP2D6-Hemmstoff oder mehr als einer in der Komedikation enthalten, wodurch der Hauptabbauweg von MET inhibiert wurde (siehe Tab. 67 und Tab. 68). Auch wenn in Tab. 67 und Tab. 68 CLO und OLA (entsprechend der KONBEST®-Stoffwechselwegeliste) als CYP2D6-Hemmstoffe gekennzeichnet sind, wurden sie bei den 77,6 % der Proben nicht als CYP2D6-Inhibitoren enthalten, da die Experimente in der vorliegenden Arbeit zeigten, dass der Metabolismus von MET und auch der anderen β -AR-Antagonisten durch CLO und OLA nicht beeinflusst wurde (siehe Kapitel 4.2.3.1).

Eine weitere Ursache für die im Bezug zur Dosis erhöhten Konzentrationen könnte in der unterschiedlichen Pharmakokinetik von Männern und Frauen liegen. Zu den Zeiten der Markteinführung von MET wurden die pharmakokinetischen Parameter, mithilfe derer der DRB ermittelt wird, nur an Männern bestimmt (siehe auch Kapitel 5.6). Da im Rahmen dieser Arbeit auch Proben von Frauen gemessen wurden und bereits in einer Studie bei Frauen um 40 % höhere MET-Konzentrationen als bei Männern beobachtet wurden [172], ist davon auszugehen, dass der Anteil an Frauen zu den erhöhten Konzentrationen im Bezug zur Dosis beitrugen.

5.4.1.3 Konzentrationsbestimmung von Propranolol

Bei PRO lagen 75,7 % der Proben unter dem DRB_{av} , während der DRB_{min} nur von 18,9 % unterschritten wurde (siehe Tab. 58 und Tab. 59). Dieses Ergebnis stimmt mit den Erwartungen überein, dass bei einem Arzneistoff mit kürzerer Halbwertszeit (bei PRO: 3 – 4 Stunden), der DRB_{av} in der Regel zu hoch angesetzt ist. Verwendet man folglich C_{min} zur Berechnung des DRB, zeigen sich 37,8 % der Proben passend zur Dosis im Vergleich zu nur 13,5 % bei der Berechnung über C_{av} (siehe Tab. 58 und Tab. 59).

Auch bei PRO gibt es Retardpräparate, die aufgrund des Freisetzungsverhaltens zu erhöhten Konzentrationen in Relation zur Dosis führen können. Retardiertes PRO wird in den Dosierungen 80 und 160 mg eingesetzt, unretardiertes PRO wird mit einer Dosis von 10, 40 und 80 mg verwendet. Bei den Konzentrationsbestimmungen gab es nur einen Patienten, der eine Dosis von 80 mg erhielt. Diese Dosis wird sowohl retardiert als auch unretardiert angewendet, weshalb eine Unterscheidung nicht möglich war. Auch die Beurteilung der Konzentrationen bezüglich des DRB ließ keinen Rückschluss auf das Freisetzungverhalten des eingesetzten Präparats zu. Von diesem Patienten wurden vier Proben analysiert. Einmal lag die Konzentration unter und zweimal über dem DRB_{min} und einmal war sie passend zur Dosis (siehe Tab. 69 Patienten-Nummer 20l,c). Auch bei PRO ist deshalb wichtig, dass auf

dem Anforderungsbogen genau angegeben wird, ob ein schnellfreisetzendes oder retardiertes Präparat verordnet wurde.

Wie bei MET orientiert sich der DRB an der Pharmakokinetik männlicher Probanden, wodurch die von Frauen bestimmten Proben nur aufgrund des Geschlechts aus dem DRB herausfallen können. Die geringere CYP1A2- und CYP2D6-Exprimierung bei Frauen kann zu 80 % höhere PRO-Serumkonzentrationen im Vergleich zu Männern führen, wie die BHAT-Studie (Beta-Blocker heart attack trial) demonstrierte [130, 173].

In der Literatur war neben der verwendeten totalen Clearance von 400 ml/min [43] auch eine totale Clearance von 1000 ml/min [72] zu finden. Berechnet man den DRB_{min} über eine Clearance von 1000 ml/min, wären 73,0 % der Proben für die Dosis zu hoch (Daten nicht gezeigt) im Vergleich zu 43,2 % (siehe Tab. 59) bei einer Clearance von 400 ml/min. In einer anderen Studie wurde eine totale Clearance von 4,9 (\pm 0,3) ml/min/kg ermittelt [174]. Damit diese einer totalen Clearance von 400 ml/min entspricht, müsste von ca. 80 kg ausgegangen werden. Dieses Gewicht ist durchaus plausibel, da bei den Phase-I-Studien zu dieser Zeit in der Regel nur Männer als Probanden eingesetzt wurden [175]. Aus diesen Gründen erfolgte die Berechnung des DRB mit einer totalen Clearance von 400 ng/ml und nicht 1000 ng/ml.

5.4.1.4 Konzentrationsbestimmung von Carvedilol

Bei den im TDM-Labor Regensburg untersuchten Patientenproben wurde CAR selten eingesetzt. Dennoch konnten drei CAR-Proben bestimmt werden. Für eine aussagekräftige Beurteilung der Konzentrationen ist die Patientenzahl noch zu gering. Die Tendenz war jedoch erkennbar, dass der DRB_{av} aufgrund der geringen Halbwertszeit von 7 Stunden zu hoch angesetzt wurde. So lagen zwei Proben unterhalb des DRB_{av} , während der DRB_{min} nur von einer Probe unterschritten wurde (siehe Tab. 60 und Tab. 61).

5.4.1.5 Konzentrationsbestimmung von Atenolol

Bei ATE wurde der über C_{av} berechnete DRB von 70 % der Proben unterschritten, bei DRB_{min} nur von einer Probe (10 %). Die Verwendung des über C_{min} ermittelten DRB erschien für ATE passender. So lagen 90 % der Proben im DRB_{min} , während bei DRB_{av} nur 30 % der Proben passend zur Dosis waren (siehe Tab. 62 und Tab. 63).

Da ATE kaum über die Leber verstoffwechselt wird, sondern die Ausscheidung zu ca. 90 % der Dosis unverändert erfolgt, jeweils ungefähr zur Hälfte über Urin und Fäzes [152], wird die Elimination von ATE in der Regel nicht durch CYP-Hemmstoffe, Polymorphismen oder Leberfunktionsstörungen beeinflusst. Dies bestätigte sich auch durch den hohen Anteil

(90 %) an Proben, die im DRB_{min} lagen. In Interaktionsstudien konnte keine Beeinflussung der Pharmakokinetik von ATE durch die Hemmstoffe Cimetidin und Ranitidin beobachtet werden [162, 176].

5.4.1.6 Konzentrationsbestimmung von Nebivolol und Timolol

Sowohl NEB als auch TIM konnten aufgrund zu geringer Serumkonzentrationen in Patienten-Proben nicht nachgewiesen werden.

Die Patienten-Probe mit der höchsten Tagesdosis von NEB war 10 mg, aufgeteilt auf zwei Einzeldosen. Berechnet man über die in Tab. 48 und Tab. 49 für NEB angegebenen Faktoren den DRB, erhält man für C_{min} ($\tau = 12$ h, $\Delta t = 12$ h) 1,31 – 2,04 ng/ml und für C_{av} 0,73 – 1,14 ng/ml. Somit liegt der, für die höchste verwendete Dosis berechnete DRB bereits unterhalb der Bestimmungsgrenze von 40 ng/ml und der Nachweisgrenze von 15,79 ng/ml (siehe Tab. 28).

In einer Studie wurde die systemische Belastung mit TIM nach topischer Gabe von 0,5 %igen Timolol-Augentropfen untersucht. Hierbei betrug die mittlere maximale Plasmakonzentration nach der morgendlichen Verabreichung der Tropfen 0,46 ng/ml und nach der Nachmittagsdosis 0,35 ng/ml [81]. Im Rahmen der Validierung ergaben sich für TIM eine Nachweisgrenze von 2,5 ng/ml und eine Bestimmungsgrenze von 5 ng/ml (siehe Tab. 28). Auch bei TIM konnten aufgrund der zu erwartenden niedrigen Konzentration keine Konzentrationsbestimmungen mit der entwickelten Methode erfolgen.

5.4.2 Beurteilung der Serumkonzentrationen hinsichtlich des therapeutischen Referenzbereichs

Bei der Entwicklung der HPLC-Messmethode wurde darauf geachtet, dass Konzentrationen, die ca. der Hälfte der unteren Grenze des TRB entsprechen, bestimmt werden können und wurden bei Qualitätskontrollen und Standards als niedrigste Konzentration (K1) gewählt. Damit sollte sichergestellt werden, dass auch Patientenproben mit einer gewissen Unterschreitung des TRB noch zuverlässig gemessen werden können.

Sowohl bei NEB-Proben als auch bei TIM-Proben waren trotzdem keine Konzentrationsbestimmungen möglich. Da alle Konzentrationen der gemessenen NEB- und TIM-Proben unterhalb der Nachweisgrenze und somit weit unter dem TRB lagen, muss die Validität der beiden therapeutischen Referenzbereiche in Frage gestellt werden.

Rechnet man über die Formel des DRB auf die Dosis zurück (siehe Formel 4 und Formel 5), die nötig wäre um bei einem Norm-Patienten Serumkonzentrationen zu erhalten, die den TRB von 88 – 195 ng/ml erreichen, müsste bei NEB das 150-Fache (berechnet über C_{av})

bzw. 200-Fache (berechnet über C_{\min} mit $\tau = 24$ h und $\Delta t = 24$ h) der in der Fachinformation empfohlenen Dosis von 5 mg verabreicht werden (Daten nicht gezeigt) [80, 141, 141]. Daher ist davon auszugehen, dass der in der Literatur beschriebene TRB zu hoch angesetzt ist. Möglicherweise wurde zur Festlegung des TRB die maximale Serumkonzentration bestimmt. In dem Leistungsverzeichnis von Synlab Labordiagnostik ist für NEB ein TRB von 1 – 8 ng/ml angegeben [177]. Dieser TRB erscheint plausibel. So deckt dieser die über C_{av} und C_{\min} berechneten dosisbezogenen Referenzbereiche (0,73 – 1,14 ng/ml und 1,31 – 2,04 ng/ml) für eine tägliche Dosis von 10 mg ab (siehe Kapitel 5.4.1.6).

Auch der TRB von TIM (10 – 40 ng/ml) scheint zu hoch angelegt zu sein [142]. Vermutlich ist der TRB für den Einsatz bei arterieller Hypertonie und nicht bei erhöhtem Augeninnendruck vorgesehen. Heutzutage findet TIM jedoch fast ausschließlich Verwendung bei erhöhtem Augeninnendruck in Form von Augentropfen. Hier geht man von einer geringeren systemischen Resorption aus.

Bei BIS lagen 64,5 % der Proben im TRB (siehe Tab. 52 und Tab. 53). Rechnet man auf die Dosis zurück, die zum Erreichen des TRB nötig wäre, bräuchte man eine Dosis von 5 mg (berechnet über C_{av} und über C_{\min} bei zweimaliger Gabe, $\tau = 12$ h, $\Delta t = 14$ h) bzw. 10 mg bei der Berechnung über C_{\min} bei einmal täglicher Tabletteneinnahme mit $\tau = 24$ h und $\Delta t = 24$ h (Daten nicht gezeigt). Da die Präparate mit einer Dosis von 5 und 10 mg zur Behandlung der Hypertonie und der koronaren Herzkrankheit zugelassen sind, ist davon auszugehen, dass der TRB nur für diese Indikationen und nicht auch für die der Herzinsuffizienz vorgesehen ist. Für die Behandlung der Herzinsuffizienz sind Präparate mit einer Dosis von 1,25 mg, 2,5 mg, 3,75 mg, 5 mg, 7,5 mg und 10 mg zugelassen [77, 78]. 41,9 % der Patienten erhielten eine geringere Tagesdosis als 5 mg (siehe Tab. 65).

Bei ATE wurde von keinem der Patienten der TRB erreicht (siehe Tab. 62 und Tab. 63). Hier wäre bei einem Norm-Patienten eine Dosis von 50 mg (berechnet über C_{av} und C_{\min} mit $\tau = 12$ h und $\Delta t = 14$ h) bzw. 100 mg (berechnet über C_{\min} mit $\tau = 24$ h und $\Delta t = 24$ h) nötig. Im Handel sind Präparate mit einer Dosis von 25, 50 und 100 mg [73]. 20 % der Patienten erhielten eine Dosis von 50 mg, allerdings nur einmal täglich, die restlichen 80 % bekamen eine Dosierung von 25 mg (siehe Tab. 65). Daraus ist ersichtlich, dass aufgrund der zu niedrig eingesetzten Dosierungen kein Patient den TRB erreichen konnte.

Sowohl bei MET als auch bei PRO lag der Großteil der Proben unter dem TRB. Bei MET wurde der TRB von 58,6 % der Patienten nicht erreicht, bei PRO unterschritten 75,7 % der Proben den TRB (siehe Tab. 54 -Tab. 59).

Bei PRO würde man zum Erreichen des TRB eine Dosis von 40 mg (berechnet über C_{av}) bzw. 60 mg, berechnet über C_{\min} bei dreimaliger Gabe mit $\tau = 8$ h und $\Delta t = 14$ h und 80 mg bei zweimaliger Tabletteneinnahme mit $\tau = 12$ h und $\Delta t = 14$ h benötigen. Dosierungen ab 40 mg sind für die Behandlung der Hypertonie und der koronaren Herzkrankheit zugelassen.

Somit ist auch bei PRO anzunehmen, dass der TRB nur für diese Indikationen festgesetzt ist. 37,5 % der Patienten erhielten eine Dosierung mit 40 mg oder mehr (siehe Tab. 65). Tabletten mit 10 mg PRO sind nur für das hyperkinetische Herzsyndrom und die symptomatische Behandlung der Hyperthyreose zugelassen [76].

Bei MET erfolgte die Rückrechnung auf die Dosis über C_{av} , da der Großteil der Proben retardiertes MET enthielt. Um den TRB bei MET zu erreichen, müsste eine Tagesdosis von ca. 100 mg eingesetzt werden. Dosierungen ab 23,75 mg MET-succinat sind für Herzinsuffizienz und ab 47,5 mg MET-succinat für alle Indikationen zugelassen. Selbst bei Herzinsuffizienz ist nach langsamen Einschleichen eine Dosis bis zu 190 mg möglich [74]. Bei MET kann der TRB somit bei allen Indikationen erreicht werden.

Bei CAR lagen zwei der gemessenen Proben (66,7 %) unterhalb des TRB und eine Probe überschritt den TRB. Zum Erreichen des TRB würde in der Regel bei zweimal täglicher Einnahme eine Mindestdosis von 25 mg (berechnet über C_{min} mit $\tau = 12$ h und $\Delta t = 12$ h) benötigt. CAR gibt es in den Dosierungen 3,125 mg, 6,25 mg, 12,5 mg und 25 mg. Die Dosis mit 25 mg ist für Hypertonie und Angina pectoris zugelassen, für Herzinsuffizienz haben CAR-Präparate in allen Dosierungen die Zulassung [79]. Auch bei CAR kann davon ausgegangen werden, dass der TRB sich auf die Indikation Hypertonie und Angina pectoris bezieht.

Zu beachten gilt, dass die Berechnung der Mindestdosis zum Erreichen des TRB für den Norm-Patienten ermittelt wurde. Bei dem individuellen Patienten kann durch eine abweichende Pharmakokinetik der TRB auch bei einer niedrigeren Dosis erreicht werden.

Mit Ausnahme von CAR wurde bei keinem der gemessenen β -AR-Antagonisten der TRB überschritten. Während CAR einen engen TRB von 5 – 10 mg hat, zeigen die anderen β -AR-Antagonisten eine größere Konzentrationsspanne (siehe Tab. 14). Über eine Rückrechnung auf die Dosis, die bei einem Norm-Patienten zum Erreichen des TRBs nötig wäre, wurde deutlich, dass der TRB größtenteils nur für die Indikation Hypertonie festgelegt ist (BIS, CAR, TIM und PRO). Indikationen, für die auch geringere Dosierungen zugelassen sind, werden bei den angegebenen TRB nicht berücksichtigt. Auffällig ist, dass bei fast allen untersuchten β -AR-Antagonisten, die Konzentration größtenteils unter dem TRB lag. Möglicherweise kamen bei den meisten Patienten die β -AR-Antagonisten bei einer anderen Indikation als Hypertonie zum Einsatz oder wurden unterdosiert verwendet. Aufgrund des niedrigeren Blutdrucks während der nächtlichen Ruhephase wurde möglicherweise auf durchgängig im TRB liegende Konzentrationen verzichtet.

5.5 Vergleich der über die mittlere Tageskonzentration und über die Minimalkonzentration berechneten dosisbezogenen Referenzbereiche

Über die Berechnung der mittleren Tageskonzentration C_{av} und der Minimalkonzentrationen C_{min} stehen zwei Methoden zur Ermittlung des DRB zu Verfügung.

Im Vergleich zueinander ist die Formel zur Berechnung des DRB_{av} einfacher als die zur Berechnung des DRB_{min} und deren Herleitung aufgrund der Proportionalität der Konzentration zur Dosis und Bioverfügbarkeit und der indirekten Proportionalität zur totalen Clearance leicht nachzuvollziehen (siehe Formel 1). Auch bei einer Aufteilung der Tagesdosis in unterschiedlich große Teildosen oder bei einer ungleichmäßigen Verteilung der Einzeldosen über den Tag liefert die Berechnung über C_{av} einen zuverlässigen Schätzwert. Kritisch zu sehen ist, dass die mittlere Tageskonzentration berechnet wird, die Blutabnahme gewöhnlich jedoch zur Talkonzentration vor der nächsten Tabletteneinnahme erfolgt. Für Konzentrationsbestimmungen im Talspiegel ist der DRB_{av} daher in der Regel zu hoch angesetzt.

Für Depot- oder Retardpräparate sollte die Berechnung des DRB über C_{av} erfolgen, da hier über eine gleichmäßige Wirkstofffreisetzung konstante Wirkstoffkonzentration erzielt werden, die der mittleren Tageskonzentration entsprechen.

Für die Ermittlung des DRB_{min} fließen zusätzlich die Eliminationshalbwertszeit, berücksichtigt in der Eliminationskonstante und das Zeitintervall zwischen Blutabnahme und letzter Tabletteneinnahme in die Berechnung mit ein (siehe Formel 2). Dadurch gestaltet sich die Berechnung zwar etwas komplexer, ermöglicht jedoch eine genauere Abschätzung der zu erwartenden Konzentration zu jedem beliebigen Zeitpunkt im Tagesverlauf. Die Berücksichtigung des Zeitintervalls erfordert allerdings die Angabe der Uhrzeit der letzten Tabletteneinnahme und des Zeitpunkts der Blutabnahme, wodurch für die Klinik oder die Arztpraxis ein zusätzlicher Dokumentationsaufwand entsteht. Die Berechnung des DRB über C_{min} setzt gleichgroße Teildosen, die in gleichen Abständen über den Tag verteilt sind, voraus. Die in dieser Arbeit verwendete alternative Berechnung über Ermittlung des DRB für jede einzelne Teildosis und anschließender Addition (siehe Kapitel 3.2.4.2), stellt eine Möglichkeit dar, auch bei ungleichmäßiger Verteilung und unterschiedlich großen Einzeldosen den DRB über C_{min} berechnen zu können. Zu beachten ist, dass diese Modifikation der Berechnung eine Annäherung darstellt und noch kritisch geprüft werden muss.

Wird der Berechnung des DRB die mittlere Tageskonzentration zugrunde gelegt, muss auch die Blutabnahme zu dem Zeitpunkt erfolgen, an dem die mittlere Tageskonzentration erreicht

wird. Dieser Zeitpunkt ist für jeden Wirkstoff verschieden und kann sich bei unterschiedlicher Einnahme (andere Verteilung der Dosis, geändertes Dosisintervall) verschieben, so dass man den Zeitpunkt der Probengewinnung anpassen muss.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Zeitintervall zwischen Blutabnahme und letzter Tabletteneinnahme berechnet, mithilfe dessen man sowohl über die Minimalkonzentration als auch über die mittlere Tageskonzentration gleiche dosisbezogene Referenzbereiche erhält (siehe Kapitel 4.4.3, Tab. 51). Über Anpassung des Blutabnahmezeitpunkts kann die einfachere Berechnung über die mittlere Tageskonzentration (C_{av}) verwendet werden, man erhält aber genaue Ergebnisse wie mit der Berechnung über die Minimalkonzentration (C_{min}). Möchte man den dosisbezogenen Referenzbereich über die einfachere Berechnung mithilfe von C_{av} ermitteln, sollte bei einmal täglicher Tabletteneinnahme zum Beispiel morgens um 8.00 Uhr, die Blutabnahme bei MET um 17.30 Uhr, bei CAR um 19.00 Uhr, bei BIS um 20.00 Uhr, bei ATE um 21.00 Uhr und bei NEB um 22.00 Uhr erfolgen. Wird das Medikament zweimal täglich eingenommen und die letzte Einnahme erfolgte um 8.00 Uhr muss die Blutentnahme bei MET und PRO um 14.30 Uhr, bei CAR und TIM um 15.00 Uhr und bei ATE um 16.30 Uhr stattfinden. Bei dreimal täglicher Tabletteneinnahme von PRO sollte das Blut um 13 Uhr abgenommen werden (siehe Kapitel 4.4.3, Tab. 51). Auch wenn durch die ermittelten Blutabnahmezeiten dem Arzt über C_{av} die deutlich einfachere Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs ermöglicht wird, wird in der Praxis eine Blutabnahme zu den errechneten Zeiten nur schwer durchführbar sein. Im Klinikalltag wird es kaum möglich sein, für jeden Patienten und je nach Medikament die Blutabnahme zu verschiedenen Zeiten durchzuführen, da diese in der Regel gesammelt morgens stattfinden. Auch ein niedergelassener Arzt wird Schwierigkeiten haben seine Patienten genau zu den ermittelten Zeiten in seine Praxis zu bestellen, noch dazu wenn die Blutabnahme nach 19 Uhr, wie für CAR, BIS, ATE und NEB bei einmal täglicher Einnahme, erfolgen soll. Aus diesem Grund ist es meistens sinnvoller den dosisbezogenen Referenzbereich über C_{min} passend zum Zeitpunkt der Blutabnahme zu berechnen.

Beide Berechnungsarten des DRB setzen voraus, dass das pharmakokinetische Gleichgewicht erreicht ist. Die verabreichte Erhaltungsdosis ersetzt somit die Wirkstoffmenge, die während des Applikationsintervalls aus dem Körper eliminiert wurde [125]. Es gibt jedoch Wirkstoffe mit extrem kurzer Halbwertszeit, die eingesetzt werden ohne ein pharmakokinetisches Gleichgewicht erreichen zu können. Bei einer Blutabnahme vor der nächsten Tabletteneinnahme kann unter Umständen kein Wirkstoff mehr nachgewiesen werden. Beispiele hierfür wären Agomelatin mit einer Halbwertszeit von 1 bis 2 Stunden aber nur einmal täglicher Tabletteneinnahme beim Zubettgehen und Methylphenidat mit einer Halbwertszeit von 2 Stunden [178, 179]. In diesen Fällen müssen bei jeder

Tabletteneinnahme die Verteilungsräume des Patienten erst wieder aufgefüllt werden. Hier erweist sich als Proportionalitätskonstante das Verteilungsvolumen statt der totalen Clearance geeigneter [125]. Für Methylphenidat wurde im Rahmen einer Doktorarbeit die Bestimmung des DRB mithilfe des Verteilungsvolumens bereits etabliert. Um noch messbare Wirkstoffkonzentrationen zu erhalten, wurde die Blutentnahme zum Zeitpunkt der Maximalkonzentration gewählt [128]. Somit hat man auch die Möglichkeit einen DRB zu ermitteln bei Fällen, in denen kein pharmakokinetisches Gleichgewicht vorliegt, wie bei Therapiebeginn, einer einmaligen Applikation oder bei Substanzen mit extrem kurzer Halbwertszeit.

5.6 Grenzen des dosisbezogenen Referenzbereichs

Die pharmakokinetischen Daten zur Berechnung des DRB stammen im Idealfall aus Phase-II-Zulassungsstudien. Phase-II-Studien werden an wenigen hundert Patienten durchgeführt und dienen zur Dosisfindung und Prüfung auf Wirksamkeit und Sicherheit [44]. Wurden im Rahmen der Phase-II-Studie keine pharmakokinetischen Parameter bestimmt, muss auf Phase-I-Zulassungsstudien zurückgegriffen werden. Diese dienen zur Bestimmung der Pharmakokinetik und liefern Erkenntnisse zu Pharmakodynamik und Verträglichkeit [44]. Nachteilig ist, dass bei Phase-I-Studien die Bestimmung der pharmakokinetischen Daten an einer relativ kleinen Population erfolgt und es sich um gesunde Probanden handelt. Werden die pharmakokinetischen Daten dieser Probanden zur Ermittlung des DRB gewählt, der als Referenz zur Beurteilung der Patientenproben verwendet wird, weichen die Patienten möglicherweise nur aufgrund einer krankheitsbedingten anderen Pharmakokinetik vom DRB ab. Bei dem „Normpatienten“, der als Referenz gewählt wird, handelt es sich im besten Fall um Patienten (ansonsten um gesunde Probanden), die neben dem Studienpräparat keine weiteren Medikamente einnehmen, keine Lebensmittel oder Genussmittel konsumieren, die den Arzneimittelabbau beeinflussen, kaukasischer Herkunft sind, keine Erkrankungen der Stoffwechselorgane zeigen und der Altersgruppe zwischen 18 und 65 Jahren angehören (siehe Kapitel 1.4.2) [125, 133]. Vorgesehen ist inzwischen auch eine ausgeglichene Berücksichtigung von Frauen und Männern, um bei der Ermittlung der pharmakokinetischen Kenngrößen geschlechterspezifische Unterschiede zu berücksichtigen. Lange Zeit wurde vermieden, Frauen in klinische Studien einzuschließen um bei unbekannter Schwangerschaft sie und den Fötus vor Risiken zu schützen und eventuelle Schadensersatzansprüche zu vermeiden [180]. Schmucker und Vesell haben bei einer Auswertung von Phase-I-Studien festgestellt, dass in dem Zeitraum von 1981 bis 1990 bei den von ihnen untersuchten Studien keine Frauen eingeschlossen wurden [175], obwohl es

schon früh Hinweise auf einen verschiedenartigen Metabolismus zwischen Mann und Frau gab. So wurden bereits im Jahre 1972 Daten veröffentlicht, die geschlechtsspezifische Unterschiede im Metabolismus von Acetylsalicylsäure zeigten [181]. Eine Untersuchung ergab, dass bei Studien, die zwischen 1995 und 1999 bei der FDA eingereicht wurden, zumindest schon 25 % der Studienteilnehmer weiblichen Geschlechts waren [180]. Bis auf OLA, QUE, CAR und NEB wurden jedoch die restlichen der betrachteten Substanzen vor dem Jahre 1990 zugelassen und auch bei OLA, QUE, CAR und NEB ist davon auszugehen, dass bei ihrer Zulassung zwischen 1995 und 1999 die Phase-I-Studien deutlich früher stattfanden und noch in den Zeitraum fielen, in dem Frauen keine Berücksichtigung in den klinischen Studien fanden. Daher wird angenommen, dass die pharmakokinetischen Daten, mithilfe derer der DRB berechnet wird, ausschließlich von Männern stammen. Welche geschlechterspezifischen Unterschiede in der Pharmakokinetik zwischen Frauen und Männer auftreten können, wurde bei Serumkonzentrationsbestimmungen deutlich. So gab es Studien, bei denen Frauen um 34,9 % höhere CLO- und um 36,3 % höhere DM-CLO-Serumspiegel im Vergleich zu Männern aufwiesen [182]. Bei MET wurde beim weiblichen Geschlecht eine Erhöhung der maximalen Konzentration (C_{max}) um 40 % und der AUC um 50 % beobachtet [172]. Im Rahmen der BHAT (Beta-blocker heart attack trial)-Studie ermittelte man bei Frauen um 80 % höhere PRO-Serumkonzentration als bei Männern [173]. Die Ursache der höheren Serumkonzentrationen bei Frauen ist in der im Vergleich zu Männern geringeren Expression von CYP2D6, das Hauptabbauenzym der betrachteten β -AR-Antagonisten, zu sehen. Bei Frauen werden CYP3A4, 2A6 und 2B6 vermehrt exprimiert, während bei Männern eine verstärkte Bildung von CYP2D6, CYP1A2 und CYP2E1 vorliegt [130]. Geschlechterspezifische Unterschiede treten bereits bei der Resorption auf. Der basale pH-Wert im Magen liegt bei Frauen im Schnitt um 0,5 Einheiten höher als bei Männern, wodurch es zu Unterschieden in der Zerfallszeit der Arzneiform und damit der Freisetzung des Wirkstoffs kommen kann. Auch die Löslichkeit von Arzneistoffen wird durch den pH-Wert beeinflusst. Aufgrund der östrogenbedingten langsameren Magenmotilität bei Frauen und der dadurch verzögerten Resorption im Dünndarm, vor allem bei magensaftresistenten Arzneiformen, kann die Bioverfügbarkeit und der Wirkungseintritt bei Frauen im Vergleich zu Männern deutliche Unterschiede aufweisen [131]. Zudem liegt bei Frauen durch die niedrigere glomeruläre Filtrationsrate eine verringerte renale Clearance vor [183].

Anhand dieser Daten wird deutlich, wie wichtig es ist, dass Frauen in gleichem Ausmaß bei klinischen Studien aufgenommen werden, um geschlechterspezifische Unterschiede in der Pharmakokinetik ausgleichen zu können. Sonst besteht die Gefahr, dass im Rahmen von Therapeutischen Drug Monitoring Proben nur aufgrund des weiblichen Geschlechts bereits

vom „Normpatienten“ abweichen und Informationen, die man über einen Vergleich der Serumkonzentration mit dem DRB erhalten würde, verloren gehen.

Zudem kann auch die geringe Anzahl an Probanden von gewöhnlich 6 – 20 Personen als nicht ausreichend gesehen werden, um daraus einen repräsentativen „Normpatienten“ darstellen zu können. So fallen bei geringer Probandenzahl Personen mit abweichender Pharmakokinetik stärker ins Gewicht und verfälschen die durchschnittliche Grundgesamtheit. Des Weiteren existiert nicht für alle Wirkstoffe Literatur zur Clearance oder es fehlt die Angabe der Standardabweichung, welche aber zur Ermittlung der Grenzen des DRB notwendig ist. Das war in dieser Arbeit bei den Wirkstoffen MET, PRO, NEB und TIM der Fall. Um dennoch die Grenzen des DRB berechnen zu können wurde jeweils der Mittelwert der Variationskoeffizienten von ATE, BIS und CAR verwendet (siehe Kapitel 3.2.4.1).

Wünschenswert wäre, wenn in Zukunft Frauen in gleichem Maße in klinischen Studien berücksichtigt werden, eine größere Probandenanzahl herangezogen wird und die pharmakokinetischen Daten vollständig ermittelt werden um einen repräsentativeren „Normpatienten“ zu erhalten. Auch könnte statt der Verwendung der Clearance \pm einfache Standardabweichung, dessen Bereich nur 68 % der Normpatienten abdeckt, die doppelte Standardabweichung zur Berechnung des DRB in Betracht gezogen werden. Damit erhält man einen Konzentrationsbereich, in dem sich 95 % der Normpatienten wiederfinden, wodurch die Anzahl der Patienten reduziert wird, deren Konzentrationen fälschlicherweise außerhalb des DRBs liegen. Trotz der aufgeführten Punkte ist der DRB bereits eine geschickte Möglichkeit, aufgrund von abweichenden Messwerten auf individuelle Veränderungen der Arzneistoffmetabolisierung aufmerksam zu machen. Da in unserem TDM-Labor in Regensburg nie ein Messwert unkommentiert mit den Referenzwerten an den Einsender zurückgeschickt wird, kann im Rahmen des klinisch-pharmakologischen Befunds auf die genannten Mängel aufmerksam gemacht werden und dem behandelnden Arzt trotzdem wertvolle Informationen übermittelt werden (siehe Kapitel 1.4.3).

5.7 Bewertung von TDM für β -Adrenozeptor-Antagonisten

TDM für β -AR-Antagonisten ist bisher in Deutschland noch nicht verbreitet. Als einfache und preiswerte Methode zur Kontrolle, ob wirksame Wirkstoffkonzentrationen erreicht werden, dienen Blutdruckbestimmungen, die TDM bei β -AR-Antagonisten überflüssig erscheinen lassen. In den USA ist TDM für β -AR-Antagonisten in der klinischen Praxis jedoch bereits verfügbar [184]. Hier findet es vor allem Anwendung bei anscheinend therapieresistenter Hypertonie, um nicht complianten Patienten zu erkennen. In verschiedenen Studien wurde beobachtet, dass Complianceprobleme der Hauptgrund eines unkontrollierbaren Bluthochdrucks sind. Entweder wurde nur ein Teil der Medikamente oder keines der verordneten Arzneimittel eingenommen. Lagen die gemessenen Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze, galt der Patient als nicht compliant [184–186]. Patienten, die die verordnete Dosis unregelmäßig bzw. unvollständig einnahmen, konnten bei diesen Studien nicht erfasst werden. Mit der Einführung eines DRB für β -AR-Antagonisten im Rahmen dieser Arbeit ist jetzt auch eine Erkennung von Teil-Compliance möglich.

Neben der Aufdeckung von Compliance-Problemen ist TDM auch für die Vermeidung von UAW von großer Bedeutung. Bei den Konzentrationsbestimmungen wurden bei derselben Dosis deutliche interindividuelle Schwankungen der Serumkonzentrationen beobachtet. Zum Beispiel ergab sich bei MET mit einer Dosis von 100 mg eine Konzentrationsspanne von 4 bis 165 ng/ml (siehe Tab. 67). Somit kann nicht erwartet werden, dass eine identische Dosierung bei verschiedenen Patienten die gleichen Serumkonzentrationen und dieselbe Wirkung erzielt. Neben den in Kapitel 1.4 aufgeführten Ursachen wie z.B. pharmakokinetische Interaktionen mit weiteren Arzneistoffen, Genpolymorphismen oder eingeschränkte Leber- oder Nierenfunktion ist ein Grund für die interindividuellen Schwankungen auch in den geschlechtsspezifischen pharmakokinetischen Unterschieden (siehe Kapitel 5.6). Häufig erhalten Frauen eine für sie inadäquate Dosis und weisen im Vergleich zu Männern höhere Wirkstoffkonzentrationen auf, wodurch ein erhöhtes Risiko von UAW besteht. Bei einer Auswertung von 48 Kohortenstudien in England mit über 500.000 Patienten, traten bei Frauen um 60 % mehr UAW auf [187]. Auch speziell bei β -AR-Antagonisten wurde von Thürmann ein signifikanter Unterschied in der Verträglichkeit der CYP2D6-abhängigen β -AR-Antagonisten MET, CAR, NEB und PRO festgestellt (siehe Abb. 48), das für β -AR-Antagonisten eine individualisiertere Therapie voraussetzt.

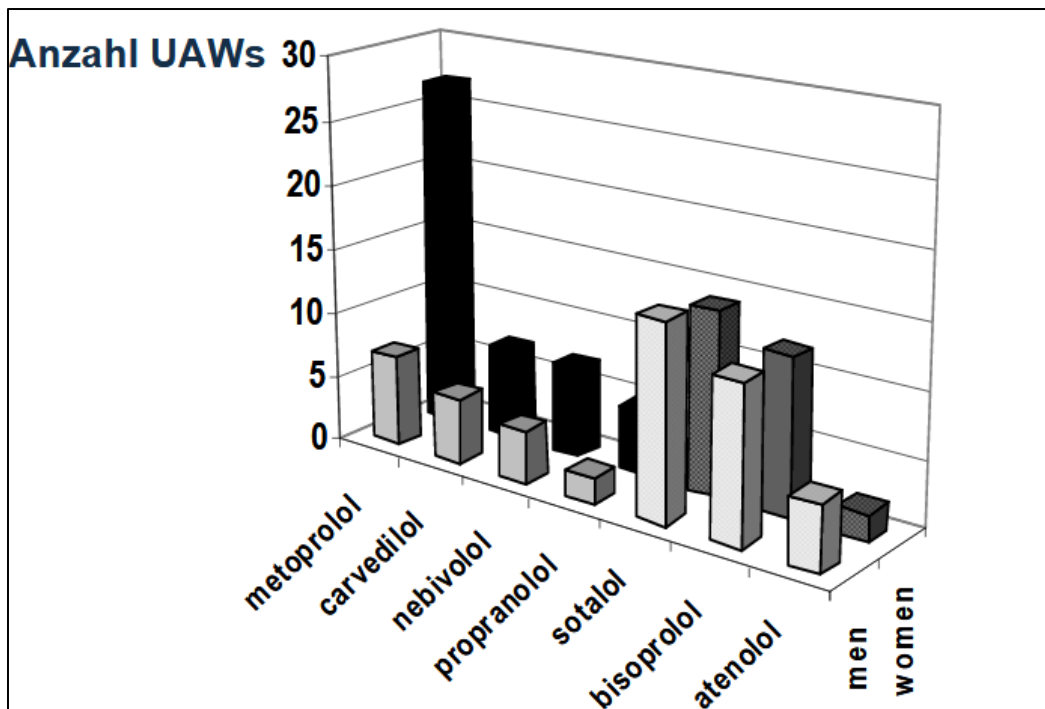


Abb. 48 Vergleich der Anzahl von UAW bei Männern und Frauen unter β -AR-Antagonisten
 Entnommen aus einem Vortrag von Thürmann P. 2009 [188]

In einer weiteren Untersuchung zeigte Thürmann, dass 285 der 3664 UAW-bedingten Krankenhausaufnahmen durch β -AR-Antagonisten verursacht waren, was 7,8 % der Krankenhausaufnahmen entspricht [189]. Bei einer norwegischen Studie waren β -AR-Antagonisten für fast 50% der Todesfälle durch Hypotension/Vasodilatation, Kardiodepression, Dysrhythmien, myokardiale Ischämie und bronchiale Obstruktion ursächlich bzw. beitragend verantwortlich [190]. Dies zeigt die Notwendigkeit auf, dass auch bei β -AR-Antagonisten TDM zur rechtzeitigen Erkennung von erhöhten Serumkonzentrationen unentbehrlich ist, um insbesondere bei Frauen Überdosierungen, UAW und sogar Todesfälle vermeiden zu können.

6. Zusammenfassung

1. Die entwickelte HPLC/UV-Messmethode ermöglicht die simultane Quantifizierung der drei Antipsychotika Olanzapin, Clozapin und Quetiapin, der sechs β -AR-Antagonisten Bisoprolol, Metoprolol, Propranolol, Timolol, Carvedilol und Nebivolol und der Metaboliten N-Desmethylolanzapin, N-Desmethyloclozapin, N-Desalkylquetiapin, α -Hydroxymetoprolol, N-Desisopropylpropranolol und 4'-Hydroxycarvedilol direkt aus Serum.
2. Die Messmethode wurde in Anlehnung an die Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologie und Forensische Chemie unter Berücksichtigung der analytischen Grenzwerte gemäß DIN 32645 validiert und erfüllte hinsichtlich Linearität, Richtigkeit, Präzision, Stabilität und Selektivität die Anforderungen.
3. Drei alternative Messmethoden wurden entwickelt:
 - a. Im Falle von Überlagerungen mit Störsubstanzen kann auf eine Ersatzmethode ausgewichen werden. Bei dieser Methode werden eine alternative Analysensäule, ein schwächerer Gradient und eine längere Laufzeit eingesetzt.
 - b. Für die Bestimmung von ATE wurde die ursprünglich entwickelte Messmethode über Reduktion des organischen Anteils im Fließmittel an die geringere Lipophilie im Vergleich zu den anderen β -AR-Antagonisten angepasst.
 - c. Für die Bestimmung von MET, BIS, PRO, CLO, QUE, CAR und NEB steht eine alternative Messmethode zu Verfügung, die durch einen höheren organischen Anteil im Fließmittel eine kürzere Analysenzeit ermöglicht.
4. CLO wurde hauptsächlich über die Isoenzyme CYP1A2, CYP2D6 und CYP3A4 abgebaut. CYP2C8, CYP2C9 und CYP2C19 waren in geringerem Ausmaß am Metabolismus beteiligt. Die Biotransformation von QUE erfolgte über CYP2D6 und vor allem über CYP3A4. MET wurde über CYP2D6 metabolisiert. CYP2C19 und CYP3A4 waren am Abbau von MET nicht beteiligt. Die Metabolisierung von PRO fand über CYP2D6 und CYP1A2 statt. CYP2C9, CYP2C19 und CYP3A4 waren bei der Biotransformation von PRO unbedeutend. Bei CAR war neben CYP2D6 und CYP1A2 auch CYP2C9 und CYP3A4 beteiligt, während CYP2C8 am Abbau von CAR keine Rolle spielte. NEB wurde über CYP2D6 und CYP3A4 nahezu im selben Ausmaß verstoffwechselt.

5. a. In den Experimenten mit humanen Leberzellmikrosomen hemmte CAR als einziger der fünf getesteten β -AR-Antagonisten den Abbau von CLO und QUE.
- b. Unter Verwendung von rekombinanten CYP2D6 wurde die Biotransformation von CLO und QUE durch MET, PRO, CAR und NEB verlangsamt. Die Inhibitionseffekte von CAR und NEB wurden bisher in der Literatur noch nicht beschrieben.
- c. Neben CYP2D6 hemmt CAR auch die Isoformen CYP1A2 und CYP3A4.
- d. CAR inhibiert den Metabolismus von CLO und QUE auch in therapeutischen Konzentrationen. Bei CLO war der Hemmeffekt durch CAR jedoch nicht signifikant.

Die Experimente zeigten, dass CYP2D6 im Abbau von CLO und QUE über HLM eine untergeordnete Rolle spielt und die CYP2D6-Hemmung durch die β -AR-Antagonisten über die anderen CYP-Isoformen ausgeglichen wird. Bei der Kombination von QUE und CAR muss beim Patienten vermutlich mit erhöhten QUE-Serumkonzentrationen gerechnet werden.

6. a. Die drei Antipsychotika OLA, CLO und QUE zeigten in den Versuchen mit humanen Leberzellmikrosomen keinen Einfluss auf den Metabolismus der β -AR-Antagonisten.
- b. Der in der Literatur beschriebene CYP1A2-Hemmeffekt durch OLA führte bei CAR in Experimenten mit rekombinanten CYP1A2 nur zu einem unwesentlich verlangsamteten Abbau, welcher auch nicht zu jedem Zeitpunkt statistisch signifikant war. Der Metabolismus von PRO wurde durch OLA nicht beeinflusst.
- a. Unter Verwendung von rekombinanten CYP2D6 wurde die Biotransformation von MET und PRO durch CLO geringfügig inhibiert. Der Abbau von CAR und NEB wurde nicht beeinflusst.

OLA und CLO scheinen nur schwache Inhibitoren zu sein, weshalb ausgehend von den beiden Antipsychotika mit keiner pharmakokinetischen Interaktion zu rechnen ist.

7. Von den 14310 OLA-, CLO- und QUE-Proben, die in dem TDM-Labor Regensburg gemessen wurden, enthielten 9,5 % einen der sieben β -AR-Antagonisten BIS, MET, PRO, CAR, NEB, ATE und TIM.
8. Mit einem Anteil von 45 % an allen β -AR-Antagonisten-Proben war BIS am häufigsten vertreten, gefolgt von MET mit einem Anteil von 32,7 %. PRO hatte einen Anteil von 14,9 % aller β -AR-Antagonisten-Proben, während die Häufigkeit von ATE, CAR, NEB und TIM bei 1,8 %, 1,5 %, 1,9 % und 2,1 % lag.

9. Im Arzneimittelverordnungs-Report 2010 zeigte sich MET als der am häufigsten eingesetzte β -AR-Antagonist mit einem Anteil von 45,6 %. BIS hatte einen Anteil von 32,7 % aller β -AR-Antagonisten. PRO hatte ein Vorkommen von 1,1 % im Vergleich von 14,9 % in der KONBEST®-Auswertung.
10. Mit der entwickelten HPLC-Messmethode konnte Therapeutisches Drug Monitoring für BIS, MET, PRO, CAR und ATE durchgeführt werden. Es wurden 62 BIS-Proben, 174 MET-Proben, 37 PRO-Proben, 3 CAR-Proben und 10 ATE-Proben gemessen. TIM und NEB konnten aufgrund der geringen Serumkonzentrationen nicht bestimmt werden.
11. Die Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs über die Talkonzentration erschien bei MET (unretardiert), PRO (unretardiert), CAR und ATE als geeigneter. Für retardiertes MET und retardiertes PRO sollte die Ermittlung des dosisbezogenen Referenzbereichs über die mittlere Tageskonzentration erfolgen.
12. Erfolgt die Blutabnahme nach einem bestimmten Zeitabstand zur letzten Tabletteneinnahme, spielt es keine Rolle, ob die Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs über die mittlere Tageskonzentration oder die Minimalkonzentration erfolgt. Dieser Zeitpunkt der Blutabnahme liegt bei BIS 12 h, bei MET 9,5 h, bei CAR 11 h, bei NEB 14 h und bei ATE 13 h nach der Tabletteneinnahme. Erfolgt die Arzneistoffapplikation zweimal täglich muss für gleiche dosisbezogene Referenzbereiche das Blut bei MET und PRO nach 6,5 h, bei CAR und TIM nach 7 h und bei ATE nach 8,5 h abgenommen werden. Wird PRO dreimal täglich eingenommen, sollte die Blutabnahme 5 h nach der Medikamenteneinnahme erfolgen.
13. Mithilfe der Konzentrationsbestimmungen wurde gezeigt, dass bei ein und derselben Dosis große interindividuelle Schwankungen der Serumkonzentrationen vorliegen, was eine individualisierte Therapie durch TDM erforderlich macht. Zur Aufdeckung von Complianceproblemen (über die Einführung des DRB jetzt zusätzlich auch von partieller Compliance möglich) wurde TDM bei β -AR-Antagonisten bereits erfolgreich eingesetzt [184]. Aufgrund der geschlechterspezifischen Unterschiede in der Pharmakokinetik können bei Frauen im Vergleich zu Männern höhere Serumkonzentrationen und dadurch auch vermehrt UAW auftreten [172, 173, 188], wodurch die Verwendung von TDM zum rechtzeitigen Erkennen von inadäquater Dosierung essentiell ist.

7. Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

4-HCAR	4'-Hydroxycarvedilol
α -HMET	α -Hydroxymetoprolol
Abb.	Abbildung
ACN	Acetonitril
ATE	Atenolol
AUC	Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (Area under the curve)
BIS	Bisoprolol
c_0	Wirkstoffkonzentration zum Zeitpunkt Null
CAR	Carvedilol
C_{av}	Mittlere Tageskonzentration (average concentration)
CLO	Clozapin
C_{max}	Maximale Konzentration
C_{min}	Talkonzentration oder Minimalkonzentration
CYP	Cytochrom P450
DAQUE	N-Desalkylquetiapin
DRB	Dosisbezogener Referenzbereich
DRB_{av}	Dosisbezogener Referenzbereich, ermittelt über die mittlere Tageskonzentration
DRB_{min}	Dosisbezogener Referenzbereich, ermittelt über die Talkonzentration
DIPRO	N-Desisopropylpropranolol
DMCLO	N-Desmethylclozapin
DMOLA	N-Desmethylolanzapin
FDA	Federal Drug Administration
MET	Metoprolol
NEB	Nebivolol
NO	Stickstoffmonoxid
OLA	Olanzapin
PRO	Propranolol
QUE	Quetiapin
t	Zeit
t_{max}	Zeit bis zum Erreichen von C_{max}
Tab.	Tabelle
TRB	Therapeutischer Referenzbereich
TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
TIM	Timolol
UAW	Unerwünschte Arzneimittelwirkung
UV	Ultraviolett

7.2 Anforderungsbogen für Therapeutisches Drug Monitoring

Abb. 49 Anforderungsbogen für Konzentrationsbestimmungen im TDM-Labor Regensburg

Stand: 07.06.2015

Konzentrationsbestimmung von Pharmaka

Klinikanschrift: _____

Station: _____ Fax: _____ Tel: _____

<p>Patient (Aufkleber) Privatpatient</p> <p>Name, Vorname: _____</p> <p>Geburtsdatum (m/w): _____</p> <hr/> <p>Größe: _____ Gewicht: _____</p> <p>Blutabnahme: Datum _____ Uhrzeit _____</p> <p>ICD-10 Diagnosen: _____</p>

zu bestimmende(s) Medikament(e):

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Alprazolam | <input type="checkbox"/> Haloperidol |
| <input type="checkbox"/> Amisulprid | <input type="checkbox"/> Imipramin+Metab. |
| <input type="checkbox"/> Amitriptylin+Metab. | <input type="checkbox"/> Lamotrigin |
| <input type="checkbox"/> Amitriptylin-Oxid | <input type="checkbox"/> Levomepromazin |
| <input type="checkbox"/> Apixaban | <input type="checkbox"/> Maprotilin |
| <input type="checkbox"/> Aripiprazol | <input type="checkbox"/> Mirtazapin |
| <input type="checkbox"/> Bromazepam | <input type="checkbox"/> Nitrazepam |
| <input type="checkbox"/> Chlordiazepoxid | <input type="checkbox"/> Nordiazepam |
| <input type="checkbox"/> Citalopram | <input type="checkbox"/> Nortriptylin |
| <input type="checkbox"/> Clobazam | <input type="checkbox"/> Olanzapin |
| <input type="checkbox"/> Clomipramin+Metab. | <input type="checkbox"/> Oxazepam |
| <input type="checkbox"/> Clonazepam | <input type="checkbox"/> Oxcarbazepin+Metab. |
| <input type="checkbox"/> Clozapin | <input type="checkbox"/> Paliperidon |
| <input type="checkbox"/> Dagibatran | <input type="checkbox"/> Paroxetin |
| <input type="checkbox"/> Desipramin | <input type="checkbox"/> Perazin |
| <input type="checkbox"/> Diazepam | <input type="checkbox"/> Pipamperon |
| <input type="checkbox"/> Donepezil | <input type="checkbox"/> Quetiapin |
| <input type="checkbox"/> Doxepin+Metab. | <input type="checkbox"/> Risperidon+Metab. |
| <input type="checkbox"/> Duloxetin | <input type="checkbox"/> Rivaroxaban |
| <input type="checkbox"/> Escitalopram | <input type="checkbox"/> Sertralin |
| <input type="checkbox"/> Flunitrazepam | <input type="checkbox"/> Trimipramin |
| <input type="checkbox"/> Fluoxetin | <input type="checkbox"/> Venlafaxin+Metab. |
| <input type="checkbox"/> Flurazepam | <input type="checkbox"/> Ziprasidon |
| <input type="checkbox"/> Fluvoxamin | |

Probennummer

Hinweis: Blutentnahme morgens vor der nächsten Tabletteneinnahme, bei Depotpräparaten vor der nächsten Injektion Vollblut in S-Monovette 7,5ml Z (Sarstedt 01.1601) - ausreichend für 3 Bestimmungen! Bitte nur in verschraubbaren Röhrchen verschicken!

Grund der Anforderung (bitte Fragestellung an das Labor so konkret wie möglich formulieren)

- | | | |
|---|--|--|
| <input type="checkbox"/> Ersteinstellung | <input type="checkbox"/> Compliance – Kontrolle | <input type="checkbox"/> neue Beschwerden (V.a. UAW, siehe unten) |
| <input type="checkbox"/> Umstellen der Medikation | <input type="checkbox"/> Arzneimittelinteraktion | <input type="checkbox"/> Metabolisierungsstatus des Patienten |
| <input type="checkbox"/> Verlaufskontrolle | <input type="checkbox"/> Konzentration im therapeutischen Bereich? | <input type="checkbox"/> Verhältnis von Konzentration zu eingesetzter Dosis? |

Gesamtmedikation am Vortag der Abnahme oder Kopie des Krankenblattes

Handelsname	Tagesdosis [mg] morgens / mittags / abends / nachts	Seit wann oder wann letzte Dosisänderung? Wann 1. Depotinjektion?
		seit: _____ oder <input type="checkbox"/> länger als eine Woche Abgesetzt seit: _____
		seit: _____ oder <input type="checkbox"/> länger als eine Woche Abgesetzt seit: _____
		seit: _____ oder <input type="checkbox"/> länger als eine Woche Abgesetzt seit: _____
		seit: _____ oder <input type="checkbox"/> länger als eine Woche Abgesetzt seit: _____
		seit: _____ oder <input type="checkbox"/> länger als eine Woche Abgesetzt seit: _____
		seit: _____ oder <input type="checkbox"/> länger als eine Woche Abgesetzt seit: _____

Bedarf für eine wirksame medikamentöse Therapie

- 0: Patient/in ist überhaupt nicht krank
 1: Patient/in ist grenzwertig krank
 2: Patient/in ist leicht krank
 3: Patient/in ist mäßig krank
 4: Patient/in ist deutlich krank
 5: Patient/in ist schwer krank
 6: Patient/in ist extrem schwer krank

Bedarf für eine Änderung der medikamentösen Therapie

- 6: und wurde unter der angegebenen Medikation deutlich schlechter
 5: und wurde unter der angegebenen Medikation schlechter
 4: und wurde unter der angegebenen Medikation etwas schlechter
 3: und wurde unter der angegebenen Medikation noch nicht besser
 2: und wurde unter der angegebenen Medikation etwas besser
 1: und wurde unter der angegebenen Medikation besser
 0: und wurde unter der angegebenen Medikation deutlich besser

Genussmittel

- Patient ist Raucher: ja, was und wieviel? nein
- Patient konsumiert Coffein? ja, was und wieviel? nein
- Patient konsumiert Alkohol? ja, was und wieviel? nein
- Sind neue Beschwerden (UAW?) aufgetreten: ja nein
- Wenn ja, welche?

Anschrift: Universität Regensburg, Pharmakologie Prof. Haen, Universitätsstr. 31, 93053 Regensburg, Tel.: +49 (0) 941 943-4766, www.amuep-aqate.de

7.3 Patientenproben

In den nachfolgenden Tabellen wurde über die Vergabe einer Patienten-Nummer (Pat.-Nr.) Proben gekennzeichnet, die von derselben Person stammen. Bis ungefähr zur Proben-Nummer 50000 erfolgte über einen Buchstaben auch die Zuordnung zu einem Antipsychotikum (a = Aripiprazol, c = Clozapin, h = Haloperidol, ol = Olanzapin, q = Quetiapin, r = Risperidon). Als klar wurde, dass eine Auswertung der unterschiedlichen Antipsychotika im Rahmen dieser Arbeit nicht stattfinden wird, wurde diese Zuordnung nicht mehr durchgeführt. Für eine bessere Interpretation der gemessenen Wirkstoffkonzentrationen hinsichtlich pharmakokinetischer Interaktionen wurde die Anzahl der Hemm- (Inh.) und Induktionseffekte (Ind.), die bei KONBEST® hinterlegt sind, gelistet. Da CYP2D6 bei den meisten β -AR-Antagonisten das Hauptabbauenzym darstellt und CYP2D6-Inhibitoren (2D6-Inh.) somit einen größeren Einfluss als andere Hemmstoffe auf den Metabolismus der β -AR-Antagonisten haben könnten, wurden diese separat aufgeführt. Um eine Auswertung bezüglich einer möglichen Interaktion zwischen β -AR-Antagonisten und den betrachteten Antipsychotika zu ermöglichen, wurden Hemmeffekte durch diese Antipsychotika mit dem entsprechenden Buchstaben gekennzeichnet. Bei den Induktoren wurde Tabak (t), Alkohol (a) und Pantoprazol (p) hervorgehoben. Über Δt wird das Zeitintervall zwischen Blutentnahme und letzter Tabletteneinnahme in Stunden (h) dargestellt, mit dessen Hilfe der über C_{\min} berechnete dosisbezogene Referenzbereich ermittelt wird. Bei mehrmaliger Tabletteneinnahme am Tag wurde für jede Teildosis über ein separates Zeitintervall der dosisbezogene Referenzbereich berechnet. Anschließend wurden die einzelnen dosisbezogenen Referenzbereiche zusammenaddiert. Bei dem Zeitintervall handelte es sich um einen geschätzten Wert, da der exakte Zeitpunkt der Tabletteneinnahme und häufig auch die Uhrzeit der Blutentnahme nicht bekannt waren. Zur Berechnung des dosisbezogenen Referenzbereichs wurde die dem Dosisintervall entsprechende Dosis (Dosis für DRB) mit dem zugehörigen Faktor (siehe Tab. 48 und Tab. 50) multipliziert. Die gemessene Wirkstoffkonzentration (Konz.) wurde mit dem therapeutischen Referenzbereich und den beiden dosisbezogenen Referenzbereichen (berechnet über C_{av} und C_{\min}) verglichen und im Falle einer zu hohen, passenden oder zu niedrigen Konzentration bei „too high“, „ok“ oder „too low“ eingeteilt.

Die Legende gilt für alle nachfolgenden Tabellen unter dem Kapitel 7.3:

Pat.Nr.	Patienten-Nummer
Inh.	Inhibitor
Ind.	Induktor
Δt	Zeitintervall zwischen Blutentnahme und letzter Tabletteneinnahme
Konz.	Gemessene Konzentration
TRB	Therapeutischer Referenzbereich
DRB	Dosisbezogener Referenzbereich
Cav	Mittlere Tageskonzentration
Cmin	Talkonzentration oder Minimalkonzentration
Too high	Konzentration liegt über dem Referenzbereich
Ok	Konzentration liegt im Referenzbereich
Too low	Konzentration liegt unter dem Referenzbereich

Tab. 66 BIS

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)			Tagesdosis (mg)	Konz. BIS (ng/ml)	TRB 10-100 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mit-tags	abends			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
42310	h	3,h	1	t	24	?	5			5	5,2			x	8	13			x	4	6		x	
42428	6a	2		p	24,14	09.30	2,5		2,5	5	21,8		x		8	13	x			5	9	x		
42892	a	1			24,14	?	2,5		2,5	5	24,7		x		8	13	x			5	9	x		
42999	2r	1,r	1,r	1	24	?	5			5	10,6		x		8	13		x		4	6	x		
43003	1r	r	r		8,22	16.00	2,5		2,5	5	8,5			x	8	13		x		8	12		x	
43494	2r	1,r	1,r	1	24	?	5			5	17,5		x		8	13	x			4	6	x		
43796	5a	1	1,(q)	t	24,14	?	2,5		2,5	5	14,1		x		8	13	x			5	9	x		
45997	0c,a	2,c	2,c	t	24,14	08.00	5		5	10	33,3		x		17	25	x			11	18	x		
46009	11ol,a	1,ol	ol		18	12.30			2,5	2,5	9,3			x	4	6	x			3	5	x		
46454	9ol	1,ol	1,ol		24	07.00	2,5			2,5	7,1			x	4	6	x			2	3	x		
46564	18c	2,c	c		24	08.40	1,25			1,25	10,8		x		2	3	x			1	2	x		
46600	c	3,c	1,c	p	24,19,14	?	2,5	2,5	2,5	7,5	19,2		x		13	19	x			8	13	x		
46621	ol	1,ol	1,ol	t	24,14	07.40	5			5	10	26,5		x		17	25	x			11	18	x	

Tab. 66 BIS (Fortsetzung)

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)			Tagesdosis (mg)	Konz. BIS (ng/ml)	TRB 10-100 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mit-tags	abends			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
46635	0c,a	2,c	2,c		24,14	?	5		5	10	27,3		x		17	25	x			11	18	x		
50034		1	1,q	p	24	07.30	2,5			2,5	3,9			x	4	6			x	2	3	x		
50068		2	1	p,a	24	07.30	1,25			1,25	6,8			x	2	3	x			1	2	x		
50108		r	r	1	24	?	10			10	20,3		x		17	25		x		7	13	x		
50131				p	24	07.00	5			5	1,0			x	8	13			x	4	6			x
50184		1	1,(q)	t	24	08.10	2,5			2,5	10,4		x		4	6	x			2	3	x		
50186		2,r	2,r		24	?	1,25			1,25	7,3			x	2	3	x			1	2	x		
50187		2	2		24	08.00	5			5	8,1			x	8	13		x		4	6	x		
50196				p	24	?	2,5			2,5	2,9			x	4	6			x	2	3			x
50197		3		p	24	07.00	5			5	12,4		x		8	13		x		4	6	x		
50208		1,r	2,r	p	24	07.00	10			10	19,6		x		17	25		x		7	13	x		
50209		1,r	r	p	24	?	5			5	6,0			x	8	13			x	4	6			x
50221	1	1,c	1,c	p	24	08.00	5			5	25,1		x		8	13	x			4	6	x		
50230			q	1,p	24,14	?	5		5	10	19,1		x		17	25		x		11	18	x		
50302	1	1,c	1,c	p	24	?	5			5	29,5		x		8	13	x			4	6	x		
50304		3,ol	2,ol		24,14	07.00	1,25		1,25	2,5	9,7			x	4	6	x			3	4	x		
50351		h,r	r		24	?	2,5			2,5	2,5			x	4	6			x	2	3			x
50384		1	2	p	24	?	5			5	7,0			x	8	13		x		4	6	x		
50420		1	1,q	p,t,a	24	?	2,5			2,5	3,0			x	4	6			x	2	3			x
58968	2	1		t	24	07.00	2,5			2,5	2,5			x	4	6			x	2	3			x
58975		c	c	t	24	08.00	5			5	11,1		x		8	13		x		4	6	x		
58982		2	2	t	24	?	5			5	26,5		x		8	13	x			4	6	x		
58986	3		q		24	?	2,5			2,5	18,1		x		4	6	x			2	3	x		
58993	4	1	q		24	?	2,5			2,5	5,2			x	4	6		x		2	3	x		
59002		3	1	1,p,t	18	07.00			5	5	7,0			x	8	13			x	5	9			x
59006		2	q	t	24	08.15	5			5	12,5		x		8	13		x		4	6	x		
59032	5				24	08.30	10			10	15,7		x		17	25			x	7	13	x		
59033	5				24	08.35	10			10	12,5		x		17	25			x	7	13			x
59034	5				24	08.35	10			10	15,2		x		17	25			x	7	13	x		

Tab. 66 BIS (Fortsetzung)

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)			Tagesdosis (mg)	Konz. BIS (ng/ml)	TRB 10-100 ng/ml			DRB über Cav			DRB über Cmin						
							morgens	mit-tags	abends			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
59041	6	2		3	24	08.00	2,5			2,5	12,7		x		4	6	x			2	3	x		
59042	6	2		3	24	08.20	2,5			2,5	10,7		x		4	6	x			2	3	x		
59043	6	2		3	24	08.30	2,5			2,5	10,3		x		4	6	x			2	3	x		
59065		2,r	1,r	p	24	?	2,5			2,5	11,6		x		4	6	x			2	3	x		
59066	7	4	3	1,p	24	?	2,5			2,5	26,3		x		4	6	x			2	3	x		
59069		2	2	p	24	?	5			5	12,9		x		8	13		x		4	6	x		
59081		4	3	1,p	6,2	14.30	2,5		1,25	3,75	16,3		x		6	9	x			8	11	x		
59092	4	1	q	1,p,t	24	07.00	2,5			2,5	9,8			x	4	6	x			2	3	x		
59101		1,r	r	1,t	24	07.45	5			5	5,4			x	8	13			x	4	6		x	
59184	2	1		t	24	?	5			5	7,7			x	8	13			x	4	6	x		
59188		3	3	1,p	24,14	08.00	1,25		1,25	2,5	26,2		x		4	6	x			3	4	x		
59190				t	24	08.00	10			10	11,1		x		17	25			x	7	13		x	
59203	8	c	c	t	24,14	?	5		5	10	23,9		x		17	25		x		11	18	x		
59210	3				24	?	2,5			2,5	11,3		x		4	6	x			2	3	x		
59212	7	3,ol	3,ol	1,p	24	08.30	2,5			2,5	19,5		x		4	6	x			2	3	x		
59216		2	3,q		24	?	2,5			2,5	16,1		x		4	6	x			2	3	x		
59242		1,ol	ol		24	07.00	7,5			7,5	24,3		x		13	19	x			5	10	x		
59251		3	2	p	24,14	08.00	5		5	10	37,8		x		17	25	x			11	18	x		
59278		1,r	1,r	p	24	08.00	1,25			1,25	2,4			x	2	3		x		1	2	x		
59306	8	c	c		24,14	08.00	5		5	10	31,9		x		17	25	x			11	18	x		

Tab. 67 MET-tartrat

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. MET (ng/ml)	TRB 35-500 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mittags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
33620	0q		q		24	?	50			50	21			x	8	16	x			0,2	1,3	x			
36327	1ol,q	2	3,q	p	24	10.00	100			100	82		x		16	31	x			0,5	2,7	x			
36379	5c	c,r	c,r	t	24,14	?	50		50	100	4			x	16	31			x	2,8	9,0		x		
36765	1ol,q	2	3,q	p	24	10.00	100			100	128		x		16	31	x			0,5	2,7	x			
37071	ol	2,ol	2,2*ol		24	7.00	50			50	46		x		8	16	x			0,2	1,3	x			
37913	3q,r	2,r	2,r,q	t	24	?	50			50	18			x	8	16	x			0,2	1,3	x			
38173	4q		1,q		24,14	?	50		50	100	51		x		16	31	x			2,8	9,0	x			
38259	4q	2	3,q	1,p	24,14	8.00	50		50	100	57		x		16	31	x			2,8	9,0	x			
39390	q	1	1,q	t	14	?			100	100	165		x		16	31	x			5,0	15,3	x			
39564	4q,r	4,r	4,r,q	1,p	24,14	?	50		50	100	13			x	16	31			x	2,8	9,0	x			
39643	4q,r	4,r	4,r,q	1,p	24,14	?	50		50	100	23			x	16	31		x		2,8	9,0	x			
39750	4q,r	4,r	4,r,q	1,p	24,14	?	50		50	100	31			x	16	31		x		2,8	9,0	x			
40029	4q,r	1,r	2,r,q	p	24,14	?	50		50	100	33			x	16	31	x			2,8	9,0	x			
40395	4q,r	4,r	4,r,q	1,p	24,14	?	50		50	100	40		x		16	31	x			2,8	9,0	x			
40773	ol	2,ol	1,2*ol,q		24,14	?	50		50	100	69		x		16	31	x			2,8	9,0	x			
40856	6ol	2,ol	ol,q	1	24	?	50			50	13			x	8	16		x		0,2	1,3	x			
43290	3q,r	1,r	1,r,q	t	24,14	8.00	25		25	50	10			x	8	16		x		1,4	4,5	x			
43588	1c	1,c	2,c	p,t	24,14	?	25		25	50	25			x	8	16	x			1,4	4,5	x			
43610	1c	1,c	2,c	p,t	24,14	07.30	25		25	50	46		x		8	16	x			1,4	4,5	x			
43689	18c,r	3,r	2,r		24,14	?	25		25	50	3			x	8	16			x	1,4	4,5		x		
45052	r	r	r		24	07.30	100			100	30			x	16	31		x		0,5	2,7	x			
45354	a	1			24,14	07.00	25		25	50	29			x	8	16	x			1,4	4,5	x			
45419	q	2	2,q	1,p	6	14.00	50			50	46		x		8	16	x			15,9	30,5	x			
46494	ol	1,ol	1,2*ol	p	24	?	100			100	7			x	16	31			x	0,5	2,7	x			
46570	ol	ol	2*ol	p	24	07.30	100			100	24			x	16	31		x		0,5	2,7	x			
50322		1,c	1,c,q		24,14	07.00	200		200	400	73		x		65	126		x		11,0	35,9	x			

Tab. 68 MET-succinat

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. MET (ng/ml)	TRB 35-500 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mit-tags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
33129	0c	3,c	2,c,r		24,14	?	95		95	190	78		x		32	63	x			5,5	17,9	x			
33595	0ol	2,ol	2,2*ol		24	?	23,75			23,75	12			x	4	8	x			0,1	0,7	x			
33683	1c,h	2,c,h	2,c		24,14	?	25		25	50	56		x		8	16	x			1,4	4,7	x			
33824	1ol	2,ol	3, 2*ol	p	24	?	95			95	28			x	16	31		x		0,5	2,7	x			
33857	2c	c	c		24,14	?	47,5		23,75	71,25	27			x	12	24	x			1,5	5,1	x			
33872	0ol	2,ol	2, 2*ol		24	?	23,75			23,75	18			x	4	8	x			0,1	0,7	x			
33873	1ol	2,ol	3, 2*ol	p	24	8.00	95			95	27			x	16	31		x		0,5	2,7	x			
34407	ol	ol	2*ol	p	24,14	8.00	47,5		47,5	95	42		x		16	31	x			2,7	9,0	x			
34412	20c,r	2,c,r	2,r	p	24,14	?	47,5		47,5	95	37		x		16	31	x			2,7	9,0	x			
34437	q		q	p,t	3,17	11.00	95		95	190	68		x		32	63	x			66,0	111,4		x		
34615	1q	1	1,q		24,14	?	47,5		47,5	95	77		x		16	31	x			2,7	9,0	x			
34668	q	2	2,q	p,t	24	7.00	95			95	69		x		16	31	x			0,5	2,7	x			
34777	c	2,c	1,c	1	24	?	23,75			23,75	23			x	4	8	x			0,1	0,7	x			
34807	c	1,c	2,c	t	24,14	?	47,5		47,5	95	65		x		16	31	x			2,7	9,0	x			
35549	c	3,c,r	4,c,r		24,14	?	95		47,5	142,5	80		x		24	47	x			3,0	10,3	x			
35814	q	3	2,q	p,t	24	8.00	47,5			47,5	11			x	8	16		x		0,2	1,3	x			
36073	c	2,c,ol	c,2*ol		24	?	95			95	15			x	16	31			x	0,5	2,7	x			
36455	6c	c	c	t	24	?	47,5			47,5	16			x	8	16	x			0,2	1,3	x			
36602	6c	c,(h)	c	t	24	?	47,5			47,5	14			x	8	16		x		0,2	1,3	x			
36626	6c	c,(h)	c	t	24	?	47,5			47,5	10			x	8	16		x		0,2	1,3	x			
36804	8c,q	1,c	c,q		24	?	47,5			47,5	33			x	8	16	x			0,2	1,3	x			
37087	9c,q	c	c,q	t	24	8.00	47,5			47,5	15			x	8	16		x		0,2	1,3	x			
37106	8c	1,c	c,q		24	?	47,5			47,5	28			x	8	16	x			0,2	1,3	x			
37217	2ol	ol	1, 2*ol		24	7.00	95			95	24			x	16	31		x		0,5	2,7	x			
37328	8q		1,q	t	24	8.00	95			95	32			x	16	31	x			0,5	2,7	x			
37344	2q		q		24	?	47,5			47,5	6			x	8	16			x	0,2	1,3	x			
37422	2ol	3,ol	5,2*ol		24	?	95			95	29			x	16	31		x		0,5	2,7	x			
37477	q	1	2,q		24	8.00	23,75			23,75	41		x		4	8	x			0,1	0,7	x			
37683	ol	1,ol	2,2*ol	t	24	?	71			71	14			x	12	24		x		0,4	2,0	x			

Tab. 68 MET-succinat (Fortsetzung)

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. MET (ng/ml)	TRB 35-500 ng/ml			DRB über Cav			DRB über Cmin					
							morgens	mit-tags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok
37844	3ol	1,(h),ol	2*ol	p	24	?	47,5			47,5	7			x	8	16			x	0,2	1,3	x		
37977	q	1	1,q		24,14	?	95		95	190	22			x	32	63			x	5,5	17,9	x		
38006	5c	3,c,r	4,c,r		24,14	?	95		47,5	142,5	67			x	24	47	x			3,0	10,3	x		
38120	q	1	q	t	24	?	47,5			47,5	35			x	8	16	x			0,2	1,3	x		
38154	10c	1,c	2,c	p,t	24,14	7.30	95		47,5	142,5	61			x	24	47	x			3,0	10,3	x		
38163	9c	c	c		24	?	47,5			47,5	21			x	8	16	x			0,2	1,3	x		
38471	9c	1,c	c		24	?	47,5			47,5	24			x	8	16	x			0,2	1,3	x		
38548	3ol,a	2,ol,h	2*ol,q	p	24	?	47,5			47,5	11			x	8	16		x		0,2	1,3	x		
38614	10c	1,c	2,c	p,t	24,14	?	95		47,5	142,5	57			x	24	47	x			3,0	10,3	x		
38876	q	4,r	1,r,q		24	?	47,5			47,5	4			x	8	16			x	0,2	1,3	x		
38901	8c,q	2,c	c,q		24	10.00	95			95	71			x	16	31	x			0,5	2,7	x		
38957	c	c	q,c	p,t	24	?	47,5			47,5	4			x	8	16			x	0,2	1,3	x		
39001	2c	c	c	t	24,14	8.00	47,5		23,75	71,25	22			x	12	24		x		1,5	5,1	x		
39116	6q	2	q		24	?	47,5			47,5	14			x	8	16		x		0,2	1,3	x		
39534	12c	c	c	t	24,14	9.30	95		95	190	11			x	32	63			x	5,5	17,9		x	
39690	ol	2,ol	2*ol	t	24,14	?	47,5		47,5	95	22			x	16	31		x		2,7	9,0	x		
39842	3ol	1,c,(h)	c	p	24	?	47,5			47,5	12			x	8	16		x		0,2	1,3	x		
39884	5ol	2,ol	2*ol,1		14	?			23,75	23,75	17			x	4	8	x			1,3	3,8	x		
39895	4ol	4,ol	2*ol,2		14	?			47,5	47,5	22			x	8	16	x			2,5	7,6	x		
39960	12c	c	c		24,14	?	95		95	190	17			x	32	63			x	5,5	17,9		x	
39997	5ol	2,ol	2*ol,1		14	?			23,75	23,75	7			x	4	8		x		1,3	3,8	x		
40091	12c	c	c		24,14	7.30	95		95	190	18			x	32	63			x	5,5	17,9		x	
40122	q	1	1,q	1	24,14	?	47,5		23,75	71,25	61			x	12	24	x			1,5	5,1	x		
40296	ol	ol	2*ol		24	?	47,5			47,5	10			x	8	16		x		0,2	1,3	x		
40311	2c	c	c		24,14	8.00	47,5		23,75	71,25	16			x	12	24		x		1,5	5,1	x		
40341		r	r	t	24,14	?	47,5		47,5	95	30			x	16	31		x		2,7	9,0	x		
40412	5ol	1,ol	2*ol		14	?			23,75	23,75	16			x	4	8	x			1,3	3,8	x		
40463	12c	1,c	1,c	t	24,14	8.30	95		95	190	25			x	32	63			x	5,5	17,9	x		
40512	13c	1,c,h	c		24,14	?	47,5		23,75	71,25	98			x	12	24	x			1,5	5,1	x		

Tab. 68 MET-succinat (Fortsetzung)

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. MET (ng/ml)	TRB 35-500 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mittags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
40544	q	2	2,Q		8,22	15.30	95		95		190	96		x		32	63	x			20,8	46,8	x		
40743	c	1,r,c	r,c		24	8.00	95				95	89		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
40900	13c	1,c,h	c		24,14	?	47,5		23,75		71,25	158		x		12	24	x			1,5	5,1	x		
41182	c	1,c	1,c	t	24,14	?	95		95		190	35		x		32	63		x		5,5	17,9	x		
41259	q	r	r,q		24,14	?	47,5		47,5		95	72		x		16	31	x			2,7	9,0	x		
41519		4	3	t	24,14	9.00	47,5		47,5		95	30			x	4	8	x			2,7	9,0	x		
41602		1	2,q	p	24	?	95				95	41		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
41625	14c	1,c	c	p	24	?	95				95	109		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
41657	c	1,c,h	c	p,t	24	6.00	95				95	121		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
41729	c	1,c,r	1,c,r	t	24,14	?	95		95		190	63		x		32	63		x		5,5	17,9	x		
41751	ol	1,ol	1,2*ol	t	24	?	95				95	64		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
41780	2c	c	c	t	24,14	9.30	47,5		23,75		71,25	29			x	12	24	x			1,5	5,1	x		
41796	7q	1	q	t	24,14	8.00	47,5		47,5		95	13			x	16	31			x	2,7	9,0	x		
41829	c	1,c	1,c	t	24,19	?	47,5	47,5			95	105		x		16	31	x			1,0	4,5	x		
41984	15c,a	1,c	c		24	8.00	95				95	25			x	16	31		x		0,5	2,7	x		
41989	16c,a	1,c	1,c	t	24,14	8.30	47,5		47,5		95	11			x	16	31	x			2,7	9,0	x		
42114	q	1	q	t	24,14	?	47,5		47,5		95	41		x		16	31	x			2,7	9,0	x		
42120	8c	2,c	c		24	9.30	95				95	131		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
42143	7ol	3,ol	1,2*ol		24,14	8.30	47,5		47,5		95	37		x		16	31	x			2,7	9,0	x		
42151	16c,a	1,c	2,c	t	24,14	8.30	47,5		47,5		95	15			x	16	31			x	2,7	9,0	x		
42153	17c,r	1,c,r	2,c,r	t	24,14	?	95		95		190	61		x		32	63		x		5,5	17,9	x		
42224	0r	r	r	p	12,2	20.00	95		95		190	45		x		32	63		x		87,9	143,3			x
42234	a	1,h			24	?	95				95	24			x	16	31		x		0,5	2,7	x		
42237	7ol	3,ol	1,2*ol		24,14	8.00	47,5		47,5		95	26			x	16	31		x		2,7	9,0	x		
42244	1,r	r	1,r		24	9.00	47,5				47,5	12			x	8	16		x		0,2	1,3	x		
42260	a,q	1	q		24	?	47,5				47,5	12			x	8	16		x		0,2	1,3	x		
42265	13c	1,c,r	c	p	24,14	?	47,5		23,75		71,25	49		x		12	24	x			1,5	5,1	x		
42267	ol	2,ol	3,2*ol		24	8.00	95				95	34			x	16	31	x			0,5	2,7	x		
42304	8q,ol	1,ol	2,2*ol	t	24	8.30	95				95	13			x	16	31			x	0,5	2,7	x		

Tab. 68 MET-succinat (Fortsetzung)

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. MET (ng/ml)	TRB 35-500 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mit-tags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
42316	3	3,ol	5,2*ol	t	24,14	?	95		95		190	148		x		32	63	x			5,5	17,9	x		
42564	a,q	3	1,q	p	24	?	23,75				23,75	29			x	4	8	x			0,1	0,7	x		
42583	0a,h	1,h			24	10.35	95				95	6			x	16	31			x	0,5	2,7	x		
42616	8ol	ol	2*ol		24,14	?	47,5		47,5		95	30			x	16	31		x		2,7	9,0	x		
42686	q		2,q		24	?	95				95	148		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
42721	r	2,r	3,r	t	24,14	7.00	47,5		47,5		95	10			x	16	31			x	2,7	9,0	x		
42866	8ol	ol	2*ol		24,14	?	47,5		47,5		95	33			x	16	31	x			2,7	9,0	x		
42870	0a,h	1,h			24	10.00	95				95	8			x	16	31			x	0,5	2,7	x		
42948	ol	2,ol	3,2*ol		24,14	?	47,5		47,5		95	9			x	16	31			x	2,7	9,0		x	
43095	19c	1,c	1,c	t	24	?	47,5				47,5	3			x	8	16			x	0,2	1,3	x		
43206	3	2,ol	3,2*ol	t	24,14	?	95		95		190	52		x		32	63		x		5,5	17,9	x		
43236	ol	1,ol	2*ol		24,14	8.30	95		95		190	48		x		32	63		x		5,5	17,9	x		
43267	8c,a,h	2,c,h			24	9.30	95				95	75		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
43341	19c	1,c	1,c	t	24	9.30	47,5				47,5	7			x	8	16			x	0,2	1,3	x		
43509	2c	c	c	t	24,14	?	47,5		23,75		71,25	31			x	12	24	x			1,5	5,1	x		
43553	q		q	p	24,14	09.20	47,5		47,5		95	26			x	16	31		x		2,7	9,0	x		
43625	q		1,q		24,19,14	9.00	95	95	95		285	90		x		49	94		x		7,1	24,3	x		
43655	19c	1,c	1,c		9	17.00	47,5				47,5	6			x	8	16			x	7,9	18,1			x
43729	8c,a	2,c	c		24	10.00	95				95	45		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
43842	ol	1,ol	2*ol		24	?	47,5				47,5	32			x	8	16	x			0,2	1,3	x		
44327	ol	2,ol	2*ol,3	t	24	07.30	47,5				47,5	19			x	8	16	x			0,2	1,3	x		
44414	1c	3,c	2,c	p,t	24,14	?	47,5		23,75		71,25	50		x		12	24	x			1,5	5,1	x		
44453	2c	c	c	t	24,14	?	47,5		23,75		71,25	51		x		12	24	x			1,5	5,1	x		
44648	1h	2,h	1	p,t	19	?		47,5			47,5	12			x	8	16		x		0,8	3,2	x		
44755	1c	3,c	2,c	p,t	24,14	?	47,5		23,75		71,25	46		x		12	24	x			1,5	5,1	x		
44884	c	c	c	t	24,14	?	47,5		23,75		71,25	33			x	12	24	x			1,5	5,1	x		
44890	a	1	1	p,t	24,14	07.30	47,5		47,5		95	126		x		16	31	x			2,7	9,0	x		
44919	ol	1,ol	2*ol		24,14	9.00	95		95		190	86		x		32	63	x			5,5	17,9	x		
44990	1c	3,c	2,c	p,t	24,14	?	47,5		23,75		71,25	41		x		12	24	x			1,5	5,1	x		

Tab. 68 MET-succinat (Fortsetzung)

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. MET (ng/ml)	TRB 35-500 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mit-tags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
45241	1h	1,h	1	p,t	24	12.00		47,5			47,5	5			x	8	16			x	0,2	1,3	x		
45403	2c	c	c	t	24,14	07.00	47,5		23,75		71,25	27			x	12	24	x			1,5	5,1	x		
45523	7q	2	q		24,14	?	47,5		47,5		95	9			x	16	31			x	2,7	9,0		x	
45825	8q	2	2,q	1,p	24	10.00	23,75				23,75	26			x	4	8	x			0,1	0,7	x		
45977	2c	c,h	c	t	24,14	07.00	47,5		23,75		71,25	30			x	12	24	x			1,5	5,1	x		
46055	ol	ol	2*ol		24,14	11.24	47,5		47,5		95	20			x	16	31		x		2,7	9,0	x		
46060	q,r	r	r,q	p	24	?	23,75				23,75	7			x	4	8		x		0,1	0,7	x		
46108	2c	c	c	t	24,14	?	47,5		23,75		71,25	29			x	12	24	x			1,5	5,1	x		
46209					24	14.30		47,5			47,5	8			x	8	16			x	0,2	1,3	x		
46220	q		q	1,p	24,14	?	95		47,5		142,5	141		x		24	47	x			3,0	10,3	x		
46596	9ol	1,ol	2*ol		24,14	9.00	95		95		190	85		x		32	63	x			5,5	17,9	x		
46626	q	1	1,q		11	?				23,75	23,75	10			x	4	8	x			2,5	6,4	x		
46673	2c	c	c	t	24,14	?	47,5		23,75		71,25	32			x	12	24	x			1,5	5,1	x		
49749	2c	c	c	t	24,14	07.45	47,5		23,75		71,25	24			x	12	24		x		1,5	5,1	x		
49915		2	1	t	24	?	47,5				47,5	42		x		8	16	x			0,2	1,3	x		
49951		1			24	?	47,5				47,5	45		x		8	16	x			0,2	1,3	x		
50004		1,c,r	c,r	1,t	21	05.00	95				95	38		x		16	31	x			1,0	4,5	x		
50006			q		24	08.20	95				95	39		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
50105		1,ol	1,2*ol		24,14	?	95		95		190	100		x		32	63	x			5,5	17,9	x		
50146		1,c	c	t	24,14	?	47,5		23,75		71,25	24			x	12	24		x		1,5	5,1	x		
50149		2	2		24,14	?	47,5		47,5		95	34			x	16	31	x			2,7	9,0	x		
50279	2	ol	1,2*ol,q	p,t,a	8,22	15.30	47,5		47,5		95	23			x	16	31		x		10,4	23,4		x	
50291		1,c	1,c	p,a	24	9.30	95				95	9			x	16	31			x	0,5	2,7	x		
50388	1	2,h	q	p,t	24	?	47,5				47,5	125		x		8	16	x			0,2	1,3	x		
50396	1	2,h	q	p,t	24,14	08.30	47,5		47,5		95	85		x		16	31	x			2,7	9,0	x		
50604	2	ol,r	2*ol,r	p,t	24,14	8.00	47,5		47,5		95	17			x	16	31		x		2,7	9,0	x		
50634		1,h		a	24	09.45	95				95	53		x		16	31	x			0,5	2,7	x		
50656		7	8	1,p	24,14	?	47,5		47,5		95	84		x		16	31	x			2,7	9,0	x		
50669		2	2		24	?	95				95	92		x		16	31	x			0,5	2,7	x		

Tab. 68 MET-succinat (Fortsetzung)

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. MET (ng/ml)	TRB 35-500 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mit-tags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
50753		1,ol	2*ol	a	24	08.20	47,5				47,5	54		x		8	16	x			0,2	1,3	x		
50883		1,h	q	p,t	24	?	47,5				47,5	141		x		8	16	x			0,2	1,3	x		
50896		1,c,h	1,c	t	24,14	?	47,5		47,5		95	14			x	16	31			x	2,7	9,0	x		

Tab. 69 PRO

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. PRO (ng/ml)	TRB 20-300 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mit-tags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
35100	1q		q	p	24,14	?	10		10		20	3			x	7	16			x	1,3	4,4		x	
38037	7b,c	1,c,r	3*c,r	p	24,14,11	7.00	10		20	20	50	3			x	19	39			x	7,1	20,9			x
38939	2c,q	1,c	3,2*c,q		24,14	?	20		20		40	2			x	15	31			x	2,6	8,9			x
39098	2ol,c	2,c	2,2*c		24,14	8.00	80		80		160	6			x	60	125			x	10,2	35,5			x
39132	1c	2,c	5,2*c	p	24,19,14	?	10	10	10		30	33		x		11	23	x			1,6	6,0	x		
39285	1c	c	1,2*c	p	24,19,14	?	10	10	10		30	4			x	11	23			x	1,6	6,0		x	
39598	2ol,c	1,c	3,2*c		24,14	?	80		80		160	15			x	60	125			x	10,2	35,5			x
39697	4c	1,c	2,2*c		12	20.04	10				10	9			x	4	8	x			1,8	5,3	x		
39869	1c	c	1,2*c		24,19,14	?	10	10	10		30	7			x	11	23			x	1,6	6,0	x		
39880	2ol,c	1,c	3,2*c		24,14	9.00	80		80		160	60		x		60	125		x		10,2	35,5	x		
39941	3ol	1,ol,r	3,4*ol,r		24,19,14	7.50	20	10	10		40	2			x	15	31			x	1,8	6,7		x	
39968	3q,a	3	6q	1	24,19,14	?	10	10	10		30	6			x	11	23			x	1,6	6,0		x	
40018	3ol,q	1	2,q		24,19,14	?	10	10	10		30	4			x	11	23			x	1,6	6,0		x	
40602		3	9q		24,19,14	?	20	20	20		60	10			x	22	47			x	3,3	12,0		x	
40985	2ol,c	1,c,r	2,c,r	p	24,14	8.30	80		80		160	48		x		60	125			x	10,2	35,5	x		

Tab. 69 PRO (Fortsetzung)

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. PRO (ng/ml)	TRB 20-300 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mittags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
41744	0a	4	2,q		24,14	?	10		10		20	9			x	7	16		x		1,3	4,4	x		
41793	r,q	1,r	2,r,q		2,21,16	10.00	10	10	10		30	79		x		11	23	x			19,5	34,0	x		
41827	1c	c	2*c		24,14	?	10		10		20	4			x	7	16			x	1,3	4,4		x	
42698	0a,q	3	8,q		4,18	11.30	10		10		20	4			x	7	16			x	12,2	23,2			x
43295	2c	2,c,(h)	1,2*c		24,14	?	20		20		40	24		x		15	31		x		2,6	8,9	x		
43308	0a,q	3	8,q		4,18	11.30	10		10		20	27		x		7	16	x			12,2	23,2	x		
43537	5q	2	q	2,p,t	24,19	7.30	10	10			20	5			x	7	16			x	0,5	2,3	x		
43567	7q	3	4,q	1	24,19	?	10	10			20	1			x	7	16			x	0,5	2,3		x	
43634		3	7,q	1,p,t	24,19,14	?	10	10	10		30	2			x	11	23			x	1,6	6,0		x	
43680	q	1	1,q	p	11	7.15				40	40	9			x	15	31			x	9,3	25,4			x
43728	q	2	q	2,p,t	24,19	?	10	10			20	3			x	7	16			x	0,5	2,3	x		
43885	6q	1	1,q	p	24,19,14	?	10	10	10		30	2			x	11	23			x	1,6	6,0		x	
44993	c	c	2*c	1	24,19,14	8.00	10	10	10		30	23		x		11	23		x		1,6	6,0	x		
45381	ol	ol	4*ol		24,19	?	10	10			20	4			x	7	16			x	0,5	2,3	x		
45957	2c,a	1,c	2,2*c		24,14	?	20		20		40	23		x		15	31		x		2,6	8,9	x		
46038	1,r	2,r	4,r	1,t	24,19,14	?	20	20	20		60	2			x	22	47			x	3,3	12,0			x
46339	1r	2,r	4,r	1,t	24,19	?	20	20			40	1			x	15	31			x	1,0	4,5		x	
49805		1,c	2*c	p	24,14	?	10		10		20	3			x	7	16			x	1,3	4,4		x	
50382		1	2	1	24	?	10				10	2			x	4	8			x	0,1	0,7	x		
50508		3	9,q	p	24,14	?	40		40	Bedarf	80	22		x		30	62			x	5,1	17,8	x		
50571		2	5	t	24,19	9.00	10	10			20	7			x	7	16			x	0,5	2,3	x		
50791		1	1		24,19,14,11	7.30	20	20	20	20	80	16			x	30	62			x	7,9	24,7		x	

Tab. 70 CAR

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Tagesdosis (mg)	Konz. CAR (ng/ml)	TRB 5-10 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mit-tags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
50522		2	10,k		24,14	08.00	25		25		25	17	x			12	17		x		6,5	9,0	x		
57008		2	10,k	p	24,14	08.00	25		12,5		18,75	3			x	9	13			x	4,1	5,7			x
59014		2,r	5,r	t	24	?	12,5				12,5	1			x	3	4			x	0,9	1,2		x	

Tab. 71 ATE

Proben Nr.	Pat. Nr.	2D6-Inh.	Inh.	Ind.	Δt (h)	Uhrzeit der Blutabnahme	Dosis (mg)				Dosis für DRB (mg)	Konz. ATE (ng/ml)	TRB 100-1000 ng/ml			DRB über Cav					DRB über Cmin				
							morgens	mit-tags	abends	nachts			too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low	unter Grenze (ng/ml)	obere Grenze (ng/ml)	too high	ok	too low
37153					24	?	50				50	32			x	96	208			x	25	91		x	
39378					4,18	12.00	12,5		12,5		25	31			x	48	104			x	76	142			x
39854	1				14,11	?			12,5	12,5	25	77			x	48	104		x		48	111		x	
39948	1				14,11	?			12,5	12,5	25	59			x	48	104		x		48	111		x	
40033	1				14,11	07.30			12,5	12,5	25	63			x	48	104		x		48	111		x	
42176					24	?	25				25	21			x	48	104			x	13	45		x	
43555					24	?	50				50	27			x	96	208			x	25	91		x	
54141	2				24	10.30	25				25	35			x	48	104			x	13	45		x	
58226	2				24	09.30	25				25	15			x	48	104			x	13	45		x	
58227	2				24	08.30	25				25	23			x	48	104			x	13	45		x	

7.4 Publikationen und Posterbeiträge

Publikationen:

Unterecker S, ..., **Silva Gracia M** et al. (2018)

Therapeutisches Drug-Monitoring in der Neuropsychopharmakologie
Zusammenfassung der Konsensusleitlinien 2017 der TDM-Arbeitsgruppe der AGNP
Nervenarzt, <https://doi.org/10.1007/s00115-018-0643-9>

Hefner G, ..., **Silva Gracia M** et al. (2018)

Konsensus-Leitlinien für therapeutisches Drug-Monitoring in der Neuropsychopharmakologie: Update 2017
Psychopharmakotherapie, 2018;25:92–140

Schoretsantis G, ..., **Silva Gracia M** et al. (2018)

TDM in psychiatry and neurology: A comprehensive summary of the consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in neuropsychopharmacology, update 2017; a tool for clinicians
The World Journal of Biological Psychiatry 19(3):1-13, DOI10.1080/15622975.2018.1439595

Hiemke C, ..., **Silva Gracia M** et al. (2018)

Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology: Update 2017.
Pharmacopsychiatry, DOI: 10.1055/s-0043-116492

Silva Gracia M, Brandl R, Haen E (2017)

Lack of pharmacokinetic interaction between antipsychotics (quetiapine, clozapine and olanzapine) and the beta-blockers metoprolol, propranolol, bisoprolol and nebivolol except between carvedilol and the antipsychotics quetiapine and clozapine.
Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques, DOI: 10.4172/2155-9872.1000387

Silva Gracia M, Köppl A, Unholzer S, Haen E (2017)

Development and validation of an HPLC-UV method for the simultaneous determination of the antipsychotics clozapine, olanzapine and quetiapine, several beta-blockers and their metabolites.
Biomedical Chromatography, DOI: 10.1002/bmc.3968

Hefner G, Unterecker S, Shams ME, **Wolf M**, Falter T, Haen E, Hiemke C (2015)

Melperone but not bisoprolol or metoprolol is a clinically relevant inhibitor of CYP2D6: evidence from a therapeutic drug monitoring survey.
Journal of Neural Transmission, 2015 Nov;122(11):1609-17

Hefner G, Unterecker S, Ben-Omar N, **Wolf M**, Falter T, Hiemke C, Haen E (2015)

Prevalence and type of potential pharmacokinetic drug-drug interactions in old aged psychiatric patients.
Contemporary Behavioral Health Care, DOI: 10.15761/CBHC.1000103

Veröffentlichte Abstracts zu Posterbeiträgen:

Silva Gracia M, Brandl R, Haen E (2016)

Comparison of the pharmacokinetic interaction of antipsychotics and beta-blockers.
Pharmacopsychiatry 2016; 26 - P9

Unholzer S, **Silva Gracia M**, Böhr S, Ben Omar N, Köppl A, Haen E (2016)

Quantification of 43 drugs in human serum by (U)-HPLC
Pharmacopsychiatry 2016; 26 – P7

Hefner G, Sigurdsson H, **Wolf M**, Hiemke C, Haen E (2014)

Melperone but not metoprolol is a clinically relevant inhibitor of CYP2D6.
Pharmacopsychiatry 2014; 47 - A14

Wolf M, Köppl A, Dörfelt A, Haen E (2012)

Beta-blockers in psychiatry: Pharmacokinetic interactions of antipsychotics with CYP2D6- HPLC as a quantitative method for analysis in TDM.
Pharmacopsychiatry 2012; 45 - A27

Posterbeiträge:

Silva Gracia M, Brandl R, Haen E (2016)

Pharmakokinetische Interaktion zwischen Carvedilol und den Antipsychotika Clozapin und Quetiapin.
DGPPN Kongress 2016, Berlin

Unholzer S, **Silva Gracia M**, Böhr S, Ben Omar N, Köppl A, Haen E (2016)

Quantification of 43 drugs in human serum by (U)-HPLC
AGNP Symposium 2016, Bremen

Silva Gracia M, Brandl R, Haen E (2015/16)

Beurteilung der pharmakinetischen Interaktion zwischen Antipsychotika und Beta-Blockern anhand enzymkinetischer Versuche.
AGNP Symposium 2016, Bremen (ausgezeichnet mit einem Posterpreis) und DGPPN Kongress 2015, Berlin

Unholzer S, **Silva Gracia M**, Köppl A, Haen E (2015)

Bipolar disorder: Development of an UHPLC-UV method for the determination of 8 psychiatric drugs in human serum.
DGPPN Kongress 2015, Berlin

Wolf M, Busch V, Heckel B, Haen E (2013)

Ein TDM- Fallbericht: Unterschiedliche Metabolisierung von (R)-Citalopram und (S)-Citalopram.
DGPPN Kongress 2013, Berlin

Wolf M, Köppl A, Dörfelt A, Haen E (2012)

Beta-blockers in psychiatry: Pharmacokinetic interactions of antipsychotics with CYP2D6- HPLC as a quantitative method for analysis in TDM.
DGPPN Kongress 2012, Berlin und AGNP Symposium 2012, Brugg (Schweiz)

7.5 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. Ekkehard Haen für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, die Überlassung des Themas, die fachliche Betreuung und die Finanzierung des Projekts und der zahlreichen Kongressteilnahmen.

Ich möchte mich auch ganz herzlich bei meinen Kolleginnen und Kollegen der Arbeitsgruppe für die unkomplizierte Zusammenarbeit, die Hilfsbereitschaft, die Unterstützung und die Freundschaft bedanken. Vielen Dank für die tolle Zeit Dr. Alexandra Köppl, Dr. Sandra Unholzer, Dr. Sebastian Böhr, Dr. Benedikt Stegmann, Regina Brandl, Nagja BenOmar, Dr. Mary Onuoha, Carina Rothammer, Dr. Bianca Fay, Katharina Endres, Daniel Braun, Florian Ridders, Yannick Lipecki, Ann-Kathrin Geiben, Mirjam Schwarz, Julian Rauch und Julian Schöllkopf.

Auch den technischen Assistentinnen Friederike Pfaff-Haimerl, Ursula Holzinger, Anett Dörfelt und Doris Melchner danke ich für die nette Unterstützung im Labor.

Mein großer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Jens Schlossmann und seiner Arbeitsgruppe für die harmonische und angenehme Zusammenarbeit und die freundliche Bereitstellung von Laborräumen am Lehrstuhl für Pharmakologie und Toxikologie für unsere Arbeitsgruppe.

Desweiteren möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Christoph Hiemke für die Kooperation und fachliche Unterstützung, für die Möglichkeit bei dem Arzneimittelinteraktionsprogramm PSIAC mitzuarbeiten und für die Bereitschaft das Zweitgutachten für meine Arbeit zu erstellen bedanken.

Vielen herzlichen Dank an Dr. Alexandra Köppl, Dr. Sarah Sutor und Veronika Lintner für das Korrekturlesen meiner Arbeit und die konstruktiven Verbesserungsvorschläge.

Zu guter Letzt möchte ich mich von Herzen bei meiner Familie und besonders bei meinem Mann bedanken, die mir die ganze Zeit motivierend zur Seite standen. Ein großes Dankeschön für die moralische Unterstützung, unendliche Geduld und das Interesse an meiner Arbeit!

7.6 Literaturverzeichnis

- [1] Bleuler, E. *Dementia praecox oder die Gruppe der Schizophrenien*; Deuticke: Leipzig, **1911**.
- [2] Ban, T.A. Fifty years chlorpromazine: A historical perspective. *Neuropsychiatric disease and treatment*, **2007**, 3, 495–500.
- [3] Azad, M.C.; Shoesmith, W.D.; Al Mamun, M.; Abdullah, A.F.; Naing, D.K.S.; Phanindranath, M.; Turin, T.C. Cardiovascular diseases among patients with schizophrenia. *Asian journal of psychiatry*, **2016**, 19, 28–36.
- [4] Heiberg, I.H.; Jacobsen, B.K.; Balteskard, L.; Bramness, J.G.; Naess, Ø.; Ystrom, E.; Reichborn-Kjennerud, T.; Hultman, C.M.; Nesvåg, R.; Høye, A. Undiagnosed cardiovascular disease prior to cardiovascular death in individuals with severe mental illness. *Acta psychiatrica Scandinavica*, **2019**.
- [5] Ringen, P.A.; Engh, J.A.; Birkenaes, A.B.; Dieset, I.; Andreassen, O.A. Increased mortality in schizophrenia due to cardiovascular disease - a non-systematic review of epidemiology, possible causes, and interventions. *Frontiers in psychiatry*, **2014**, 5, 137.
- [6] Fischer, V.; Vogels, B.; Maurer, G.; Tynes, R.E. The antipsychotic clozapine is metabolized by the polymorphic human microsomal and recombinant cytochrome P450 2D6. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **1992**, 260, 1355–1360.
- [7] Shin, J.G.; Soukhova, N.; Flockhart, D.A. Effect of antipsychotic drugs on human liver cytochrome P-450 (CYP) isoforms in vitro: preferential inhibition of CYP2D6. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, **1999**, 27, 1078–1084.
- [8] Otton, S.V.; Inaba, T.; Kalow, W. Competitive inhibition of sparteine oxidation in human liver by beta-adrenoceptor antagonists and other cardiovascular drugs. *Life sciences*, **1984**, 34, 73–80.
- [9] Bax, N.D.; Lennard, M.S.; Tucker, G.T. Inhibition of antipyrine metabolism by beta-adrenoceptor antagonists. *British journal of clinical pharmacology*, **1981**, 12, 779–784.
- [10] Perrild, H.; Kayser, L.; Poulsen, H.E.; Skovsted, L.; Jorgensen, B.; Hansen, J.M. Differential effect of continuous administration of beta-adrenoceptor antagonists on antipyrine and phenytoin clearance. *British journal of clinical pharmacology*, **1989**, 28, 551–554.
- [11] Polasek, T.M.; Lin, F.P.Y.; Miners, J.O.; Doogue, M.P. Perpetrators of pharmacokinetic drug-drug interactions arising from altered cytochrome P450 activity: a criteria-based assessment. *British journal of clinical pharmacology*, **2011**, 71, 727–736.

- [12] Kallio, J.; Huupponen, R.; Seppala, M.; Sako, E.; Iisalo, E. The effects of beta-adrenoceptor antagonists and levomepromazine on the metabolic ratio of debrisoquine. *British journal of clinical pharmacology*, **1990**, *30*, 638–643.
- [13] Hefner, G.; Unterecker, S.; Shams, M.E.E.; Wolf, M.; Falter, T.; Haen, E.; Hiemke, C. Melperone but not bisoprolol or metoprolol is a clinically relevant inhibitor of CYP2D6: Evidence from a therapeutic drug monitoring survey. *J Neural Transm*, **2015**, *122*, 1609–1617.
- [14] Callaghan, J.T.; Bergstrom, R.F.; Ptak, L.R.; Beasley, C.M. Olanzapine. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. *Clinical pharmacokinetics*, **1999**, *37*, 177–193.
- [15] Grimm, S.W.; Richtand, N.M.; Winter, H.R.; Stams, K.R.; Reece, S.B. Effects of cytochrome P450 3A modulators ketoconazole and carbamazepine on quetiapine pharmacokinetics. *British journal of clinical pharmacology*, **2006**, *61*, 58–69.
- [16] Horikiri, Y.; Suzuki, T.; Mizobe, M. Pharmacokinetics and Metabolism of Bisoprolol Enantiomers in Humans. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1998**, *87*, 289–294.
- [17] Lefebvre, J.; Poirier, L.; Poirier, P.; Turgeon, J.; Lacourciere, Y. The influence of CYP2D6 phenotype on the clinical response of nebivolol in patients with essential hypertension. *British journal of clinical pharmacology*, **2007**, *63*, 575–582.
- [18] Peer, A.; Snoeck, E.; Woestenborghs, R.; Velde, V.; Mannens, G.; Meuldermans, W.; Heykants, J. Clinical Pharmacokinetics of Nebivolol. *Drug Invest*, **1991**, *3*, 25–30.
- [19] Lennard, M.S.; Silas, J.H.; Freestone, S.; Ramsay, L.E.; Tucker, G.T.; Woods, H.F. Oxidation Phenotype — A Major Determinant of Metoprolol Metabolism and Response. *N Engl J Med*, **1982**, *307*, 1558–1560.
- [20] Rowland, K.; WYNNE ELLIS, S.; Lennard, M.S.; Tucker, G.T. Variable contribution of CYP2D6 to the N-Dealkylation of S(-)-propranolol by human liver microsomes. *British journal of clinical pharmacology*, **1996**, *42*, 390–393.
- [21] Volotinen, M.; Turpeinen, M.; Tolonen, A.; Uusitalo, J.; Maenpaa, J.; Pelkonen, O. Timolol Metabolism in Human Liver Microsomes Is Mediated Principally by CYP2D6. *Drug Metabolism and Disposition*, **2007**, *35*, 1135–1141.
- [22] Oldham, H.G.; Clarke, S.E. In vitro identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of R(+)- and S(-)-carvedilol. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, **1997**, *25*, 970–977.
- [23] Micossi, P.; Pollavini, G.; Raggi, U.; Librenti, M.C.; Garimberti, B.; Beggi, P. Effects of metoprolol and propranolol on glucose tolerance and insulin secretion in diabetes mellitus. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*, **1984**, *16*, 59–63.

- [24] Osser, D.N.; Najarian, D.M.; Dufresne, R.L. Olanzapine increases weight and serum triglyceride levels. *The Journal of clinical psychiatry*, **1999**, *60*, 767–770.
- [25] Wirshing, D.A.; Boyd, J.A.; Meng, L.R.; Ballon, J.S.; Marder, SR; Wirshing, W.C. The effects of novel antipsychotics on glucose and lipid levels. *The Journal of clinical psychiatry*, **2002**, *63*, 856–865.
- [26] Lainscak, M.; Keber, I.; Anker, S.D. Body composition changes in patients with systolic heart failure treated with beta blockers: a pilot study. *International journal of cardiology*, **2006**, *106*, 319–322.
- [27] Boxall, B.W.; Clark, A.L. Beta-blockers and weight change in patients with chronic heart failure. *Journal of cardiac failure*, **2012**, *18*, 233–237.
- [28] Byington, R.P.; Worthy, J.; Craven, T.; Furberg, C.D. Propranolol-induced lipid changes and their prognostic significance after a myocardial infarction: the Beta-Blocker Heart Attack Trial experience. *The American journal of cardiology*, **1990**, *65*, 1287–1291.
- [29] Dursun, S.M.; Szemis, A.; Andrews, H.; Reveley, M.A. The effects of clozapine on levels of total cholesterol and related lipids in serum of patients with schizophrenia: a prospective study. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN*, **1999**, *24*, 453–455.
- [30] Fogari, R.; Zoppi, A.; Pasotti, C.; Poletti, L.; Tettamanti, F.; Malamani, G.; Corradi, L. Plasma lipids during chronic antihypertensive therapy with different beta-blockers. *Journal of cardiovascular pharmacology*, **1989**, *14 Suppl 7*, 32.
- [31] Gaulin, B.D.; Markowitz, J.S.; Caley, C.F.; Nesbitt, L.A.; Dufresne, R.L. Clozapine-associated elevation in serum triglycerides. *The American journal of psychiatry*, **1999**, *156*, 1270–1272.
- [32] Leon, J. de; Susce, M.T.; Johnson, M.; Hardin, M.; Pointer, L.; Ruano, G.; Windemuth, A.; Diaz, F.J. A clinical study of the association of antipsychotics with hyperlipidemia. *Schizophrenia research*, **2007**, *92*, 95–102.
- [33] Pollare, T.; Lithell, H.; Selinus, I.; Berne, C. Sensitivity to insulin during treatment with atenolol and metoprolol: a randomised, double blind study of effects on carbohydrate and lipoprotein metabolism in hypertensive patients. *BMJ (Clinical research ed.)*, **1989**, *298*, 1152–1157.
- [34] Hagg, S.; Joelsson, L.; Mjorndal, T.; Spigset, O.; Oja, G.; Dahlqvist, R. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in patients treated with clozapine compared with patients treated with conventional depot neuroleptic medications. *The Journal of clinical psychiatry*, **1998**, *59*, 294–299.
- [35] Baymiller, S.P.; Ball, P.; McMahon, R.P.; Buchanan, R.W. Serum glucose and lipid changes during the course of clozapine treatment: the effect of concurrent beta-adrenergic antagonist treatment. *Schizophrenia research*, **2003**, *59*, 49–57.

- [36] Pandit, M.K.; Burke, J.; Gustafson, A.B.; Minocha, A.; Peiris, A.N. Drug-induced disorders of glucose tolerance. *Annals of internal medicine*, **1993**, *118*, 529–539.
- [37] Grajower, M.M.; Walter, L.; Albin, J. Hypoglycemia in chronic hemodialysis patients: association with propranolol use. *Nephron*, **1980**, *26*, 126–129.
- [38] Kotler, M.N.; Berman, L.; Rubenstein, A.H. Hypoglycaemia precipitated by propranolol. *Lancet (London, England)*, **1966**, *2*, 1389–1390.
- [39] Angelo-Nielsen, K. Timolol Topically and Diabetes Mellitus. *JAMA*, **1980**, *244*, 2263.
- [40] Silverstone, B.Z.; Marcus, T. Hypoglycemia due to ophthalmic timolol in a diabetic. *Harefuah*, **1990**, *118*, 693–694.
- [41] Lithell, H.; Pollare, T.; Vessby, B. Metabolic effects of pindolol and propranolol in a double-blind cross-over study in hypertensive patients. *Blood pressure*, **1992**, *1*, 92–101.
- [42] Benkert, O.; Hippus, H. *Kompendium der Psychiatrischen Pharmakotherapie*, 11th ed.; Springer: Berlin, **2017**.
- [43] Ammon, H.P.T., Ed. *Arzneimittelneben- und -wechselwirkungen: Ein Handbuch und Tabellenwerk für Ärzte und Apotheker*; Wiss. Verl.-Ges: Stuttgart, **2001**.
- [44] Aktories, K.; Forth, W.; Förstermann, U. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: Für Studenten der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie, Chemie und Biologie sowie für Ärzte, Tierärzte und Apotheker*, 9th ed.; Elsevier Urban & Fischer: München, **2005**.
- [45] Mylan Healthcare GmbH. Fachinformation Leronex, Stand August 2017.
- [46] Lilly Deutschland GmbH. Fachinformation Zyprexa, Stand Februar 2017.
- [47] AstraZeneca GmbH. Fachinformation Seroquel, Stand Mai 2016.
- [48] AstraZeneca GmbH. Fachinformation Seroquel prolong, Stand Mai 2016.
- [49] Hiemke, C.; Bergemann, N.; Clement, H.W.; Conca, A.; Deckert, J.; Domschke, K.; Eckermann, G.; Egberts, K.; Gerlach, M.; Greiner, C.; Gründer, G.; Haen, E.; Havemann-Reinecke, U.; Hefner, G.; Helmer, R.; Janssen, G.; Jaquenoud, E.; Laux, G.; Messer, T.; Mössner, R.; Müller, M.J.; Paulzen, M.; Pfuhlmann, B.; Riederer, P.; Saria, A.; Schoppek, B.; Schoretsanitis, G.; Schwarz, M.; Gracia, M.S.; Stegmann, B.; Steimer, W.; Stingl, J.C.; Uhr, M.; Ulrich, S.; Unterecker, S.; Waschgler, R.; Zernig, G.; Zurek, G.; Baumann, P. Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology: Update 2017. *Pharmacopsychiatry*, **2017**.
- [50] Markowitz, J.S.; Brown, C.S.; Moore, T.R. Atypical antipsychotics. Part I: Pharmacology, pharmacokinetics, and efficacy. *The Annals of pharmacotherapy*, **1999**, *33*, 73–85.
- [51] KONBEST. <https://www.konbest.de/>.

- [52] Dragovic, S.; Boerma, J.S.; van Bergen, L.; Vermeulen, N.P.E.; Commandeur, J.N.M. Role of human glutathione S-transferases in the inactivation of reactive metabolites of clozapine. *Chemical research in toxicology*, **2010**, *23*, 1467–1476.
- [53] Dain, J.G.; Nicoletti, J.; Ballard, F. Biotransformation of clozapine in humans. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, **1997**, *25*, 603–609.
- [54] Eiermann, B.; Engel, G.; Johansson, I.; Zanger, U.M.; Bertilsson, L. The involvement of CYP1A2 and CYP3A4 in the metabolism of clozapine. *British journal of clinical pharmacology*, **1997**, *44*, 439–446.
- [55] Linnet, K.; Olesen, O.V. Metabolism of clozapine by cDNA-expressed human cytochrome P450 enzymes. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, **1997**, *25*, 1379–1382.
- [56] Wagmann, L.; Meyer, M.R.; Maurer, H.H. What is the contribution of human FMO3 in the N-oxygenation of selected therapeutic drugs and drugs of abuse? *Toxicology letters*, **2016**, *258*, 55–70.
- [57] Tugnait, M.; Hawes, E.M.; McKay, G.; Eichelbaum, M.; Midha, K.K. Characterization of the human hepatic cytochromes P450 involved in the in vitro oxidation of clozapine. *Chemico-Biological Interactions*, **1999**, *118*, 171–189.
- [58] Pirmohamed, M.; Williams, D.; Madden, S.; Templeton, E.; Park, B.K. Metabolism and bioactivation of clozapine by human liver in vitro. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **1995**, *272*, 984–990.
- [59] Jaquenoud Sirot, E.; Knezevic, B.; Morena, G.P.; Harenberg, S.; Oneda, B.; Crettol, S.; Ansermot, N.; Baumann, P.; Eap, C.B. ABCB1 and cytochrome P450 polymorphisms: clinical pharmacogenetics of clozapine. *Journal of clinical psychopharmacology*, **2009**, *29*, 319–326.
- [60] Arranz, M.J.; Dawson, E.; Shaikh, S.; Sham, P.; Sharma, T.; Aitchison, K.; Crocq, M.A.; Gill, M.; Kerwin, R.; Collier, D.A. Cytochrome P4502D6 genotype does not determine response to clozapine. *British journal of clinical pharmacology*, **1995**, *39*, 417–420.
- [61] Dahl, M.L.; Llerena, A.; Bondesson, U.; Lindstrom, L.; Bertilsson, L. Disposition of clozapine in man: Lack of association with debrisoquine and S-mephenytoin hydroxylation polymorphisms. *British journal of clinical pharmacology*, **1994**, *37*, 71–74.
- [62] Brittain, H.G. *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*, 1st ed.; Elsevier textbooks: s.l., **1993**.
- [63] Ring, B.J.; Catlow, J.; Lindsay, T.J.; Gillespie, T.; Roskos, L.K.; Cerimele, B.J.; Swanson, S.P.; Hamman, M.A.; Wrighton, S.A. Identification of the human cytochromes P450 responsible for the in vitro formation of the major oxidative metabolites of the antipsychotic agent olanzapine. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **1996**, *276*, 658–666.

- [64] Korprasertthaworn, P.; Polasek, T.M.; Sorich, M.J.; McLachlan, A.J.; Miners, J.O.; Tucker, G.T.; Rowland, A. In Vitro Characterization of the Human Liver Microsomal Kinetics and Reaction Phenotyping of Olanzapine Metabolism. *Drug Metab Dispos*, **2015**, *43*, 1806–1814.
- [65] Kassahun, K.; Mattiuz, E.; Nyhart, E., JR; Obermeyer, B.; Gillespie, T.; Murphy, A.; Goodwin, R.M.; Tupper, D.; Callaghan, J.T.; Lemberger, L. Disposition and biotransformation of the antipsychotic agent olanzapine in humans. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, **1997**, *25*, 81–93.
- [66] Erickson-Ridout, K.K.; Zhu, J.; Lazarus, P. Olanzapine metabolism and the significance of UGT1A448V and UGT2B1067Y variants. *Pharmacogenetics and genomics*, **2011**, *21*, 539–551.
- [67] Grimm, S.W.; Stams, K.R.; Bui, K. In vitro prediction of potential metabolic drug interactions for seroquel. *Schizophrenia research*, **1997**, *24*, 198.
- [68] Bakken, G.V.; Molden, E.; Knutsen, K.; Lunder, N.; Hermann, M. Metabolism of the active metabolite of quetiapine, N-desalkylquetiapine in vitro. *Drug Metab Dispos*, **2012**, *40*, 1778–1784.
- [69] Bakken, G.V.; Rudberg, I.; Christensen, H.; Molden, E.; Refsum, H.; Hermann, M. Metabolism of quetiapine by CYP3A4 and CYP3A5 in presence or absence of cytochrome B5. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, **2009**, *37*, 254–258.
- [70] DeVane, C.L.; Nemeroff, C.B. Clinical pharmacokinetics of quetiapine: an atypical antipsychotic. *Clinical pharmacokinetics*, **2001**, *40*, 509–522.
- [71] Gefvert, O.; Bergstrom, M.; Langstrom, B.; Lundberg, T.; Lindstrom, L.; Yates, R. Time course of central nervous dopamine-D2 and 5-HT2 receptor blockade and plasma drug concentrations after discontinuation of quetiapine (Seroquel) in patients with schizophrenia. *Psychopharmacology*, **1998**, *135*, 119–126.
- [72] Borchard, U. Pharmacological properties of beta-adrenoceptor blocking drugs. *Journal of Clinical and Basic Cardiology*, **1998**, 5–9.
- [73] AstraZeneca GmbH. Fachinformation Tenormin, Stand März 2016.
- [74] AstraZeneca GmbH. Fachinformation Beloc-Zok, Stand August 2014.
- [75] HEUMANN PHARMA. Fachinformation Metoprolol Heumann, Stand Dezember 2016.
- [76] mibe GmbH Arzneimittel. Fachinformation Dociton, Stand Juni 2015.
- [77] Merck Serono GmbH. Fachinformation Concor COR, Stand September 2015.
- [78] Merck Serono GmbH. Fachinformation Concor, Stand Januar 2015.
- [79] Roche Pharma AG. Fachinformation Dilatrend, Stand Januar 2015.
- [80] HEUMANN PHARMA. Fachinformation Nebivolol Heumann, Stand Juli 2015.
- [81] Santen GmbH. Fachinformation Cosopt, Stand Januar 2015.

- [82] Ignarro, L.J. Different pharmacological properties of two enantiomers in a unique beta-blocker, nebivolol. *Cardiovascular therapeutics*, **2008**, *26*, 115–134.
- [83] Siebert, C.D.; Hansicke, A.; Nagel, T. Stereochemical comparison of nebivolol with other beta-blockers. *Chirality*, **2008**, *20*, 103–109.
- [84] Zhou, H.H.; Wood, A.J. Stereoselective disposition of carvedilol is determined by CYP2D6. *Clinical pharmacology and therapeutics*, **1995**, *57*, 518–524.
- [85] Knöpfel, S.; Lichtenthal, A. *Blickpunkt Nebivolol*, 4th ed.; Aesopus: Linkenheim-Hochstetten, **2007**.
- [86] Leopold, G. Balanced pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol. *Journal of cardiovascular pharmacology*, **1986**, *8 Suppl 11*, S16-20.
- [87] Borg, K.O.; Carlsson, E.; Hoffmann, K.J.; Jönsson, T.E.; Thorin, H.; Wallin, B. Metabolism of metoprolol-(3-h) in man, the dog and the rat. *Acta pharmacologica et toxicologica*, **1975**, *36*, 125–135.
- [88] Arfwidsson, A.; Borg, K.O.; Hoffmann, K.J.; Skånberg, I. Metabolism of metoprolol in the rat in vitro and in vivo. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, **1976**, *6*, 691–711.
- [89] Regardh, C.G.; Johnsson, G. Clinical pharmacokinetics of metoprolol. *Clinical pharmacokinetics*, **1980**, *5*, 557–569.
- [90] McGourty, J.C.; Silas, J.H.; Lennard, M.S.; Tucker, G.T.; Woods, H.F. Metoprolol metabolism and debrisoquine oxidation polymorphism--population and family studies. *British journal of clinical pharmacology*, **1985**, *20*, 555–566.
- [91] Lennard, M.S.; Tucker, G.T.; Woods, H.F. The polymorphic oxidation of beta-adrenoceptor antagonists. Clinical pharmacokinetic considerations. *Clinical pharmacokinetics*, **1986**, *11*, 1–17.
- [92] Otton, S.V.; Crewe, H.K.; Lennard, M.S.; Tucker, G.T.; Woods, H.F. Use of quinidine inhibition to define the role of the sparteine/debrisoquine cytochrome P450 in metoprolol oxidation by human liver microsomes. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **1988**, *247*, 242–247.
- [93] Batty, J.A.; Hall, A.S.; White, H.L.; Wikstrand, J.; Boer, R.A. de; van Veldhuisen, D.J.; van der Harst, P.; Waagstein, F.; Hjalmarson, Å.; Kjekshus, J.; Balmforth, A.J. An investigation of CYP2D6 genotype and response to metoprolol CR/XL during dose titration in patients with heart failure: A MERIT-HF substudy. *Clinical pharmacology and therapeutics*, **2014**, *95*, 321–330.
- [94] Buhring, K.U.; Sailer, H.; Faro, H.P.; Leopold, G.; Pabst, J.; Garbe, A. Pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol-14C in three animal species and in humans. *Journal of cardiovascular pharmacology*, **1986**, *8 Suppl 11*, S21-8.

- [95] Dutta, A.; Lanc, R.; Begg, E.; Robson, R.; Sia, L.; Dukart, G.; Desjardins, R.; Yacobi, A. Dose proportionality of bisoprolol enantiomers in humans after oral administration of the racemate. *Journal of clinical pharmacology*, **1994**, *34*, 829–836.
- [96] Rowland, K.; Yeo, W.W.; Ellis, S.W.; Chadwick, I.G.; Haq, I.; Lennard, M.S.; Jackson, P.R.; Le Ramsay; Tucker, G.T. Inhibition of CYP2D6 activity by treatment with propranolol and the role of 4-hydroxy propranolol. *British journal of clinical pharmacology*, **1994**, *38*, 9–14.
- [97] Walle, T.; Gaffney, T.E. Propranolol metabolism in man and dog: Mass spectrometric identification of six new metabolites. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **1972**, *182*, 83–92.
- [98] Narimatsu, S.; Nakata, T.; Shimizudani, T.; Nagaoka, K.; Nakura, H.; Masuda, K.; Katsu, T.; Koeda, A.; Naito, S.; Yamano, S.; Miyata, A.; Hanioka, N. Regio- and stereoselective oxidation of propranolol enantiomers by human CYP2D6, cynomolgus monkey CYP2D17 and marmoset CYP2D19. *Chemico-Biological Interactions*, **2011**, *189*, 146–152.
- [99] Shimizudani, T.; Nagaoka, K.; Hanioka, N.; Yamano, S.; Narimatsu, S. Comparative study of the oxidation of propranolol enantiomers in hepatic and small intestinal microsomes from cynomolgus and marmoset monkeys. *Chemico-Biological Interactions*, **2010**, *183*, 67–78.
- [100] Yoshimoto, K.; Echizen, H.; Chiba, K.; Tani, M.; Ishizaki, T. Identification of human CYP isoforms involved in the metabolism of propranolol enantiomers-N-desisopropylation is mediated mainly by CYP1A2. *British journal of clinical pharmacology*, **1995**, *39*, 421–431.
- [101] Johnson, J.A.; Herring, V.L.; Wolfe, M.S.; Relling, M.V. CYP1A2 and CYP2D6 4-hydroxylate propranolol and both reactions exhibit racial differences. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **2000**, *294*, 1099–1105.
- [102] Paterson, J.W.; Conolly, M.E.; Dollery, C.T.; Hayes, A.; Cooper, R.G. The pharmacodynamics and metabolism of propranolol in man. *European journal of clinical pharmacology*, **1970**, *2*, 127–133.
- [103] Crowther, A.F.; Smith, L.H. Beta-adrenergic blocking agents. II. Propranolol and related 3-amino-1-naphthoxy-2-propanols. *Journal of medicinal chemistry*, **1968**, *11*, 1009–1013.
- [104] Sowinski, K.M.; Burlew, B.S. Impact of CYP2D6 poor metabolizer phenotype on propranolol pharmacokinetics and response. *Pharmacotherapy*, **1997**, *17*, 1305–1310.
- [105] Ishida, K.; Taira, S.; Morishita, H.; Kayano, Y.; Taguchi, M.; Hashimoto, Y. Stereoselective oxidation and glucuronidation of carvedilol in human liver and intestinal microsomes. *Biological & pharmaceutical bulletin*, **2008**, *31*, 1297–1300.

- [106] Hendrickx, J.; Bockx, M.; Zwijsen, C.; Borgmans, C.; Mannens, G.; Meuldermans, W.; Heykants, J. Location of the hydroxyl functions in hydroxylated metabolites of nebivolol in different animal species and human subjects as determined by on-line high-performance liquid chromatography-diode-array detection. *Journal of chromatography. A*, **1996**, *729*, 341–354.
- [107] Kamali, F.; Howes, A.; Thomas, S.H.; Ford, G.A.; Snoeck, E. A pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction study between nebivolol and the H₂-receptor antagonists cimetidine and ranitidine. *British journal of clinical pharmacology*, **1997**, *43*, 201–204.
- [108] Sahana G. N; Sarala, N.; Kumar T. N. Nebivolol - pharmacological aspects: A review. *International Journal of Biological and Medical Research*, **2011**.
- [109] Volotinen, M.; Korjamo, T.; Tolonen, A.; Turpeinen, M.; Pelkonen, O.; Hakkola, J.; Maenpaa, J. Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on timolol metabolism in human liver microsomes and cryo-preserved hepatocytes. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, **2010**, *106*, 302–309.
- [110] Edeki, T.I.; He, H.; Wood, A.J. Pharmacogenetic explanation for excessive beta-blockade following timolol eye drops. Potential for oral-ophthalmic drug interaction. *JAMA*, **1995**, *274*, 1611–1613.
- [111] Nieminen, T.; Uusitalo, H.; Maenpaa, J.; Turjanmaa, V.; Rane, A.; Lundgren, S.; Ropo, A.; Rontu, R.; Lehtimaki, T.; Kahonen, M. Polymorphisms of genes CYP2D6, ADRB1 and GNAS1 in pharmacokinetics and systemic effects of ophthalmic timolol. A pilot study. *European journal of clinical pharmacology*, **2005**, *61*, 811–819.
- [112] Meunier, B.; Visser, S.P. de; Shaik, S. Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome p450 enzymes. *Chemical reviews*, **2004**, *104*, 3947–3980.
- [113] Krishna, D.R.; Klotz, U. Extrahepatic metabolism of drugs in humans. *Clinical pharmacokinetics*, **1994**, *26*, 144–160.
- [114] Ding, X.; Kaminsky, L.S. Human extrahepatic cytochromes P450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annual review of pharmacology and toxicology*, **2003**, *43*, 149–173.
- [115] Nelson, D.R.; Koymans, L.; Kamataki, T.; Stegeman, J.J.; Feyereisen, R.; Waxman, D.J.; Waterman, M.R.; Gotoh, O.; Coon, M.J.; Estabrook, R.W.; Gunsalus, I.C.; Nebert, D.W. P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics*, **1996**, *6*, 1–42.
- [116] Ingelman-Sundberg, M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: Properties and polymorphisms. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, **2004**, *369*, 89–104.

- [117] Shimada, T.; Yamazaki, H.; Mimura, M.; Inui, Y.; Guengerich, F.P. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: Studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **1994**, *270*, 414–423.
- [118] Freissmuth, M.; Offermanns, S.; Böhm, S. *Pharmakologie und Toxikologie: Von den molekularen Grundlagen zur Pharmakotherapie*, 2nd ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, s.l., **2016**.
- [119] Sachse, C.; Brockmöller, J.; Bauer, S.; Roots, I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: Allele frequencies and phenotypic consequences. *American journal of human genetics*, **1997**, *60*, 284–295.
- [120] Reinecke, K.; Böhm, R.; Haen, E.; Cascorbi, I.; Herdegen, T. Arzneimittel und CYP2D6. *Deutsche Apothekerzeitung*, **2012**, *47*, 60.
- [121] Deshpande, N.; V, S.; V V, R.K.; H V V, M.; M, S.; Banerjee, R.; Tandan, M.; D, N.R. Rapid and ultra-rapid metabolizers with CYP2C19*17 polymorphism do not respond to standard therapy with proton pump inhibitors. *Meta gene*, **2016**, *9*, 159–164.
- [122] Melanson, S.E.F.; Stevenson, K.; Kim, H.; Antin, J.H.; Court, M.H.; Ho, V.T.; Ritz, J.; Soiffer, R.J.; Kuo, F.C.; Longtine, J.A.; Jarolim, P. Allelic variations in CYP2B6 and CYP2C19 and survival of patients receiving cyclophosphamide prior to myeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *American journal of hematology*, **2010**, *85*, 967–971.
- [123] Zhou, Y.; Ingelman-Sundberg, M.; Lauschke, V.M. Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clinical pharmacology and therapeutics*, **2017**.
- [124] Eichelbaum, M.; Burk, O. CYP3A genetics in drug metabolism. *Nature medicine*, **2001**, *7*, 285–287.
- [125] Haen, E.; Greiner, C.; Bader, W.; Wittmann, M. Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen zur Therapieleitung. Ergänzung therapeutischer Referenzbereiche durch dosisbezogene Referenzbereiche. *Der Nervenarzt*, **2008**, *79*, 558–566.
- [126] Haen, E. Therapeutic drug monitoring in pharmacovigilance and pharmacotherapy safety. *Pharmacopsychiatry*, **2011**, *44*, 254–258.
- [127] Haen, E. Der TDM-Befund. *Psychopharmakotherapie*, **2012**, 129–134.
- [128] Stegmann, B. Klinisch-pharmazeutische Betreuung von Patienten mit hyperkinetischen Störungen. Dissertation, Universität Regensburg, **2015**.
- [129] Chen, M.L.; Lee, S.C.; Ng, M.J.; Schuirmann, D.J.; Lesko, L.J.; Williams, R.L. Pharmacokinetic analysis of bioequivalence trials: implications for sex-related issues in

- clinical pharmacology and biopharmaceutics. *Clinical pharmacology and therapeutics*, **2000**, *68*, 510–521.
- [130] Waxman, D.J.; Holloway, M.G. Sex differences in the expression of hepatic drug metabolizing enzymes. *Molecular pharmacology*, **2009**, *76*, 215–228.
- [131] Donovan, M.D. Sex and racial differences in pharmacological response: effect of route of administration and drug delivery system on pharmacokinetics. *Journal of women's health (2002)*, **2005**, *14*, 30–37.
- [132] Unholzer, S. *Optimierung der Psychopharmakotherapie bipolarer Patienten durch Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)*, 1st ed.; Kovac, Dr. Verlag: Hamburg, **2017**.
- [133] Klein, H.-G.; Haen, E. *Pharmakogenetik und Therapeutisches Drug Monitoring: Diagnostische Bausteine für die individualisierte Therapie*; de Gruyter: Berlin, Boston, **2018**.
- [134] Hiemke, C.; Baumann, P.; Bergemann, N.; Conca, A.; Dietmaier, O.; Egberts, K.; Fric, M.; Gerlach, M.; Greiner, C.; Gründer, G.; Haen, E.; Havemann-Reinecke, U.; Jaquenoud Sirot, E.; Kirchherr, H.; Laux, G.; Lutz, U.C.; Messer, T.; Müller, M.J.; Pfuhlmann, B.; Rambeck, B.; Riederer, P.; Schoppek, B.; Stingl, J.; Uhr, M.; Ulrich, S.; Waschgler, R.; Zernig, G. AGNP consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in psychiatry: update 2011. *Pharmacopsychiatry*, **2011**, *44*, 195–235.
- [135] Preskorn, S.H. Therapeutic Drug Monitoring (TDM) in psychiatry (part I): Why studies attempting to correlate drug concentration and antidepressant response don't work. *Journal of psychiatric practice*, **2014**, *20*, 133–137.
- [136] Hiemke, C.; Bergemann, N.; Clement, H.W.; Conca, A.; Deckert, J.; Domschke, K.; Eckermann, G.; Egberts, K.; Gerlach, M.; Greiner, C.; Gründer, G.; Haen, E.; Havemann-Reinecke, U.; Hefner, G.; Helmer, R.; Janssen, G.; Jaquenoud, E.; Laux, G.; Messer, T.; Mössner, R.; Müller, M.J.; Paulzen, M.; Pfuhlmann, B.; Riederer, P.; Saria, A.; Schoppek, B.; Schoretsanitis, G.; Schwarz, M.; Gracia, M.S.; Stegmann, B.; Steimer, W.; Stingl, J.C.; Uhr, M.; Ulrich, S.; Unterecker, S.; Waschgler, R.; Zernig, G.; Zurek, G.; Baumann, P. Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology: Update 2017. *Pharmacopsychiatry*, **2018**, *51*, e1.
- [137] Gex-Fabry, M.; Balant-Gorgia, A.E.; Balant, L.P. Therapeutic drug monitoring of olanzapine: the combined effect of age, gender, smoking, and comedication. *Therapeutic drug monitoring*, **2003**, *25*, 46–53.
- [138] Koestlbacher, A.; Haen, E. Konbest – A Web-Based Laboratory Information Management System (LIMS) for TDM-Laboratories. *Pharmacopsychiatry*, **2008**, *41*.
- [139] Greiner, C.; Haen, E. Therapeutisches Drug-Monitoring in der Psychiatrie - Erstellung von Referenzbereichen für die Dosis-Konzentrations-Beziehung. *Psychiat Prax*, **2007**, *34*, 90–92.

- [140] Madea, B. *Praxis Rechtsmedizin: Befunderhebung, Rekonstruktion, Begutachtung*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, s.l., **2003**.
- [141] Heinroth, K.M.; Kuhn, C.; Walper, R.; Busch, I.; Winkler, M.; Prondzinsky, R. Akute Intoxikation mit dem beta 1-selektiven beta-Rezeptorenblocker Nebivolol in suizidaler Absicht. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*, **1999**, 124, 1230–1234.
- [142] Harvey; Blythe. British Journal of Clinical Practice: Symposium supplement. *British Journal of Clinical Practice: Symposium supplement*, **1987**, 48-54, 21.
- [143] Peters FT, Hartung M, Herbold M, Schmitt G, Daldrup T, Mußhoff F. Anhang B zur Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. *Toxichem Krimtech*, **2009**, 33, 185–204.
- [144] DIN 32645. *Chemische Analytik: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze; Ermittlung unter Wiederholbedingungen; Begriffe, Verfahren, Auswertung.*, **1994**.
- [145] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration,omalley. Guidance for Industry-Biomedical Method Validation. <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm070107.pdf> (Accessed May 12, 2016).
- [146] ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Methodology, **1996**.
- [147] Kammann Ulrike. Nachweis- und Bestimmungsgrenze für Anfänger. <https://ukammann.wordpress.com/2010/03/18/nachweis-und-bestimmungsgrenze-fur-anfanger/>.
- [148] Hartmann, C.; Smeyers-Verbeke, J.; Massart, D.L.; McDowall, R.D. Validation of bioanalytical chromatographic methods. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, **1998**, 17, 193–218.
- [149] Karnes, H.T.; Shiu, G.; Shah, V.P. Validation of bioanalytical methods. *Pharmaceutical research*, **1991**, 8, 421–426.
- [150] Köber Ralf. *Therapeutisches Drug Monitoring von Antidementiva: Implementierung eines neuen HPLC/UV-Ansatzes für das TDM aller Antidementiva in der medizinischen Routineanalytik und seine Relevanz für die Pharmakotherapie im gerontopsychiatrischen Klinikalltag*; Verlag Dr. Kovac: Hamburg, **2012**.
- [151] Shah, V.P.; Midha, K.K.; Dighe, S.; McGilveray, I.J.; Skelly, J.P.; Yacobi, A.; Layloff, T.; Viswanathan, C.T.; Cook, C.E.; McDowall, R.D. Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. Conference report. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, **1991**, 16, 249–255.
- [152] Reeves, P.R.; McAinsh, J.; McIntosh, D.A.; Winrow, M.J. Metabolism of atenolol in man. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, **1978**, 8, 313–320.

- [153] Schwabe, U.; Paffrath, D. *Arzneiverordnungs-Report 2010*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2010**.
- [154] Olesen, O.V.; Linnet, K. Contributions of five human cytochrome P450 isoforms to the N-demethylation of clozapine in vitro at low and high concentrations. *Journal of clinical pharmacology*, **2001**, *41*, 823–832.
- [155] Hasselstrom, J.; Linnet, K. In vitro studies on quetiapine metabolism using the substrate depletion approach with focus on drug-drug interactions. *Drug metabolism and drug interactions*, **2006**, *21*, 187–211.
- [156] McGinnity, D.F.; Parker, A.J.; Soars, M.; Riley, R.J. Automated Definition of the Enzymology of Drug Oxidation by the Major Human Drug Metabolizing Cytochrome P450s. *Drug Metab Dispos*, **2000**, *28*, 1327–1334.
- [157] Prisant, L.M. Nebivolol: Pharmacologic profile of an ultraselective, vasodilatory beta1-blocker. *Journal of clinical pharmacology*, **2008**, *48*, 225–239.
- [158] Zhou, S.-F.; Yang, L.-P.; Zhou, Z.-W.; Liu, Y.-H.; Chan, E. Insights into the Substrate Specificity, Inhibitors, Regulation, and Polymorphisms and the Clinical Impact of Human Cytochrome P450 1A2. *AAPS J*, **2009**, *11*, 481–494.
- [159] Zhou, H.H.; Anthony, L.B.; Roden, D.M.; Wood, A.J. Quinidine reduces clearance of (+)-propranolol more than (-)-propranolol through marked reduction in 4-hydroxylation. *Clinical pharmacology and therapeutics*, **1990**, *47*, 686–693.
- [160] Okubo, M.; Narita, M.; Murayama, N.; Akimoto, Y.; Goto, A.; Yamazaki, H. Individual differences in in vitro and in vivo metabolic clearances of the antipsychotic drug olanzapine from non-smoking and smoking Japanese subjects genotyped for cytochrome P4502D6 and flavincontaining monooxygenase 3. *Human psychopharmacology*, **2016**.
- [161] Chellingsworth, M.C.; Laughler, S.; Akhlaghi, S.; Jack, D.B.; Kendall, M.J. The effects of ranitidine and cimetidine on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of metoprolol. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, **1988**, *2*, 521–527.
- [162] Kirch, W.; Spahn, H.; Kohler, H.; Ohnhaus, E.E.; Mutschler, E. Interaction of metoprolol, propranolol and atenolol with concurrent administration of cimetidine. *Klinische Wochenschrift*, **1982**, *60*, 1401–1407.
- [163] Leemann, T.D.; Devi, K.P.; Dayer, P. Similar effect of oxidation deficiency (debrisoquine polymorphism) and quinidine on the apparent volume of distribution of (+/-)-metoprolol. *European journal of clinical pharmacology*, **1993**, *45*, 65–71.
- [164] Carrillo, J.A.; Herraiz, A.G.; Ramos, S.I.; Gervasini, G.; Vizcaino, S.; Benitez, J. Role of the smoking-induced cytochrome P450 (CYP)1A2 and polymorphic CYP2D6 in steady-state concentration of olanzapine. *Journal of clinical psychopharmacology*, **2003**, *23*, 119–127.

- [165] Berlit, P. *Klinische Neurologie*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, s.l., **1999**.
- [166] Schneider, F.M. *Facharztwissen Psychiatrie und Psychotherapie*; Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2012**.
- [167] Martínez, C.; Albet, C.; Agúndez, J.A.; Herrero, E.; Carrillo, J.A.; Márquez, M.; Benítez, J.; Ortiz, J.A. Comparative in vitro and in vivo inhibition of cytochrome P450 CYP1A2, CYP2D6, and CYP3A by H2-receptor antagonists. *Clinical pharmacology and therapeutics*, **1999**, *65*, 369–376.
- [168] Kirch, W.; Rose, I.; Klingmann, I.; Pabst, J.; Ohnhaus, E.E. Interaction of bisoprolol with cimetidine and rifampicin. *European journal of clinical pharmacology*, **1986**, *31*, 59–62.
- [169] Leopold, G.; Pabst, J.; Ungethum, W.; Buhning, K.U. Basic pharmacokinetics of bisoprolol, a new highly beta 1-selective adrenoceptor antagonist. *Journal of clinical pharmacology*, **1986**, *26*, 616–621.
- [170] Kirchheiner, J. Geschlechtsunterschiede in Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Psychopharmaka. *Fortschr Neurol Psychiatr*, **2005**, *73*.
- [171] Nina Griese, Ralf Goebel, Sabine Breiholz und Martin Schulz. Austauschbarkeit von Retardpräparaten. *Pharmazeutische Zeitung*, **2010**.
- [172] Luzier, A.B.; Killian, A.; Wilton, J.H.; Wilson, M.F.; Forrest, A.; Kazierad, D.J. Gender-related effects on metoprolol pharmacokinetics and pharmacodynamics in healthy volunteers. *Clinical pharmacology and therapeutics*, **1999**, *66*, 594–601.
- [173] Walle, T.; Byington, R.P.; Furberg, C.D.; McIntyre, K.M.; Vokonas, P.S. Biologic determinants of propranolol disposition: results from 1308 patients in the Beta-Blocker Heart Attack Trial. *Clinical pharmacology and therapeutics*, **1985**, *38*, 509–518.
- [174] Ochs, H.R.; Grube, E.; Greenblatt, D.J.; Knuchel, M.; Bodem, G. Kinetics and cardiac effects of propranolol in humans. *Klinische Wochenschrift*, **1982**, *60*, 521–525.
- [175] Schmucker, D.L.; Vesell, E.S. Underrepresentation of women in clinical drug trials. *Clinical pharmacology and therapeutics*, **1993**, *54*, 11–15.
- [176] Mutschler, E.; Spahn, H.; Kirch, W. The interaction between H2-receptor antagonists and beta-adrenoceptor blockers. *British journal of clinical pharmacology*, **1984**, *17 Suppl 1*, 51–57.
- [177] Synlab Labordiagnostik. Leistungsverzeichnis Medikamentenspiegel. <http://extern.synlab.com/Catalog/?idLoc=1> (Accessed May 22, 2017).
- [178] Les Laboratoires Servier. Fachinformation Valdoxan, Stand Juli 2017.
- [179] Novartis Pharma GmbH. Fachinformation Ritalin, Stand Februar 2017.

- [180] Thürmann, P.A. Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Pharmakokinetik und -dynamik von Arzneimitteln. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*, **2005**, *48*, 536–540.
- [181] Menguy, R.; Desbaillets, L.; Masters, Y.F.; Okabe, S. Evidence for a sex-linked difference in aspirin metabolism. *Nature*, **1972**, *239*, 102–103.
- [182] Lane, H.Y.; Chang, Y.C.; Chang, W.H.; Lin, S.K.; Tseng, Y.T.; Jann, M.W. Effects of gender and age on plasma levels of clozapine and its metabolites: analyzed by critical statistics. *The Journal of clinical psychiatry*, **1999**, *60*, 36–40.
- [183] Anderson, G.D. Gender differences in pharmacological response. *International review of neurobiology*, **2008**, *83*, 1–10.
- [184] Brinker, S.; Pandey, A.; Ayers, C.; Price, A.; Raheja, P.; Arbique, D.; Das, S.R.; Halm, E.A.; Kaplan, N.M.; Vongpatanasin, W. Therapeutic drug monitoring facilitates blood pressure control in resistant hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, **2014**, *63*, 834–835.
- [185] Ceral, J.; Habrdova, V.; Vorisek, V.; Bima, M.; Pelouch, R.; Solar, M. Difficult-to-control arterial hypertension or uncooperative patients? The assessment of serum antihypertensive drug levels to differentiate non-responsiveness from non-adherence to recommended therapy. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*, **2011**, *34*, 87–90.
- [186] Jung, O.; Gechter, J.L.; Wunder, C.; Paulke, A.; Bartel, C.; Geiger, H.; Toennes, S.W. Resistant hypertension? Assessment of adherence by toxicological urine analysis. *Journal of hypertension*, **2013**, *31*, 766–774.
- [187] Martin, R.M.; Biswas, P.N.; Freemantle, S.N.; Pearce, G.L.; Mann, R.D. Age and sex distribution of suspected adverse drug reactions to newly marketed drugs in general practice in England: analysis of 48 cohort studies. *British journal of clinical pharmacology*, **1998**, *46*, 505–511.
- [188] Thürmann, P.A. Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Pharmakotherapie, **2009**.
- [189] Ärzte Zeitung. Therapie mit Digitalis und Diuretika ist bei Alten eine besondere Kunst. http://www.aerztezeitung.de/politik_gesellschaft/arzneimittelpolitik/article/434129/therapie-digitalis-diuretika-alten-besondere-kunst.html?sh=23&h=1278353500 (Accessed July 12, 2017).
- [190] Buajordet, I.; Ebbesen, J.; Erikssen, J.; Brørs, O.; Hilberg, T. Fatal adverse drug events: the paradox of drug treatment. *Journal of internal medicine*, **2001**, *250*, 327–341.