

Arzneimittelmetabolismus und Pharmakogenetik

Vorlesung WS 2016/17:
MAMF
für Studierende der Molekularen Medizin

Prof. Dr. Urs Christen
pharmazentrum frankfurt
Klinikum der Goethe Universität

<http://www.urschristen.de/>

1

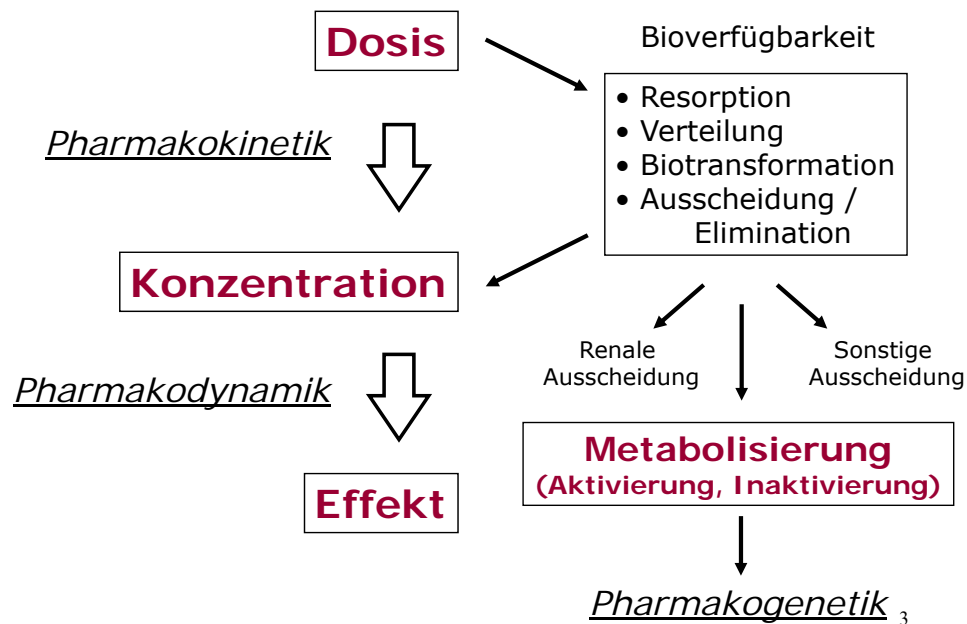
Arzneimittelmetabolismus

Ziele des Kurses:

- **Arzneimittelmetabolismus**
 - Phase I und II Reaktionen
- Arzneimittelinteraktionen – Unerwünschte Wirkungen
- Pharmakogenetik - Polymorphismen

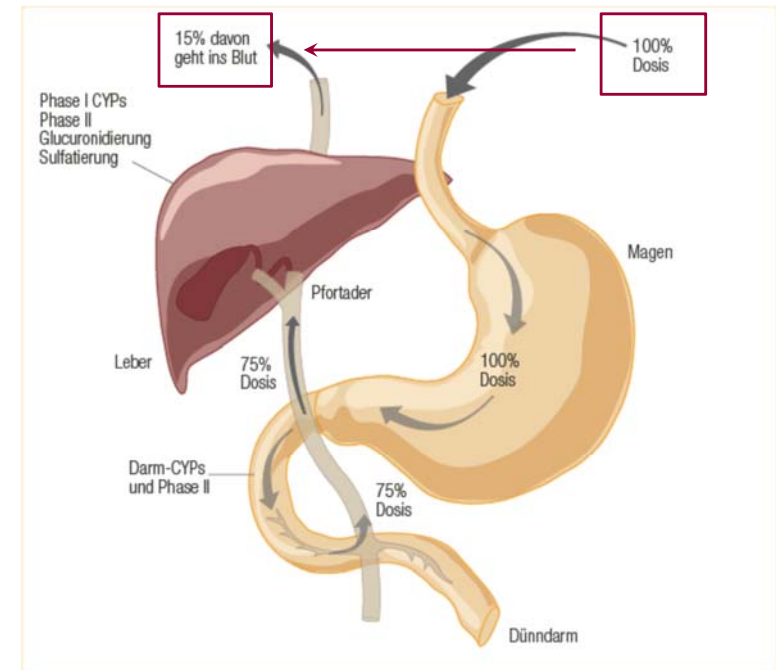
2

Arzneimittelmetabolismus



3

Arzneimittelmetabolismus



4

Arzneimittelmetabolismus

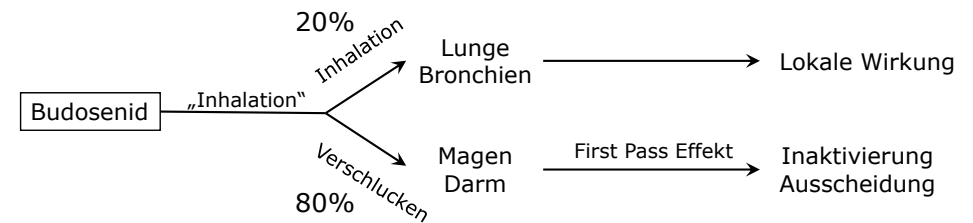
-
- Arzneimittelmetabolisierung während des ersten Durchgangs durch die Leber
 - Inaktivierung / Aktivierung des Arzneimittels
 - Perorale Anwendungsform → Darm → Pfortader → Leber → Blut → Wirkort
 - **Ausgeprägter First-Pass Effekt:** Metabolisierung / Ausscheidung des grössten Teils des Arzneimittels vor dem Erreichen des Wirkorts
 - Bei Enzyminduktion kann der First-Pass Effekt bei wiederholter Anwendung verstärkt sein
 - Umgehung des First-Pass Effekt durch andere Applikationswege (intravenöse / intramuskuläre Injektion, Suppositorium, transdermale Pflaster, etc.)

5

Arzneimittelmetabolismus – First-Pass Effekt

Beispiel: Budosenid

- Endogene Glucocorticoide (Cortisol, Cortison) haben einen sehr stark ausgeprägten First-Pass Effekt → ungeeignet für perorale Applikation
- Orale Glucocorticoide (Dexamethason) sind abgewandelt → langsame Metabolisierung in der Leber
- Inhalative Glucocorticoide (z.B. **Budosenid**) wurden wiederum so abgewandelt, dass sie einen ausgeprägtem First-Pass Effekt besitzen



6

Arzneimittelmetabolismus

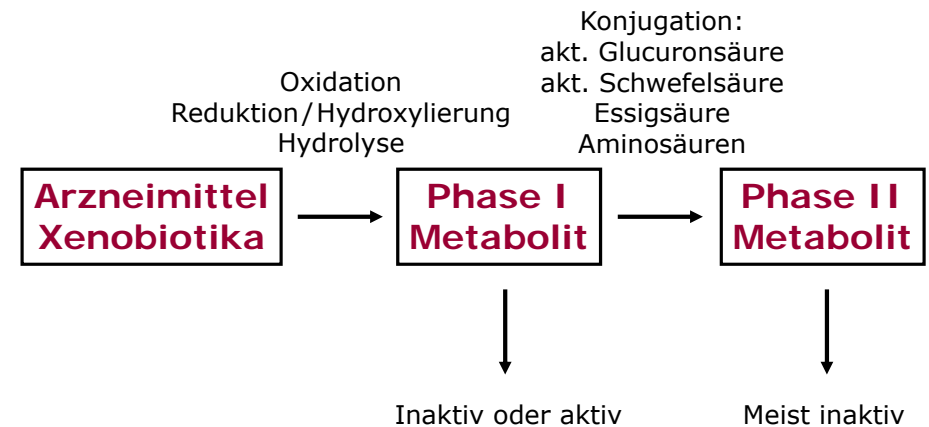
Ziele des Kurses:

- Arzneimittelmetabolismus
→ Phase I und II Reaktionen
- Arzneimittelinteraktionen – Unerwünschte Wirkungen
- Pharmakogenetik - Polymorphismen

7

Arzneimittelmetabolismus

Biotransformation: Lipophil → Hydrophil



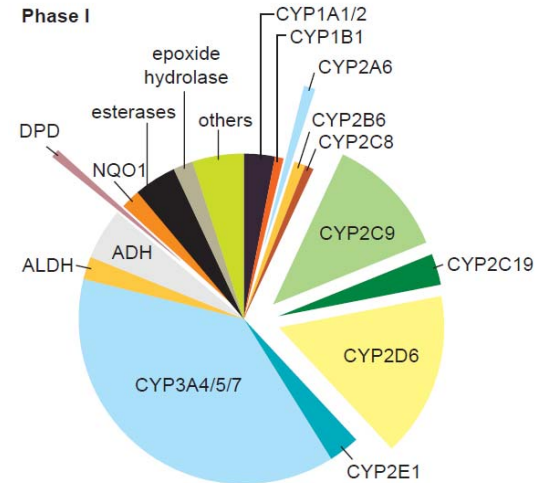
8

Arzneimittelmetabolismus

Phase I → Funktionalisierungsphase

- Einführung oder Freilegung von funktionellen Gruppen
- Vorbereitung der Phase II
- Inaktivierung oder Aktivierung („Prodrug“) des Arzneimittels
- Enzyme der Oxidation / Reduktion:
 - Cytochrom P450-abhängige Monooxygenasen (CYP)
 - Oxidoreduktasen
 - Dehydrogenasen (z.B. Alkohol- / Aldehyd-Dehydrogenasen)
- Enzyme der Hydrolyse:
 - Esterasen
 - Amidhydrolasen
 - Epoxidhydrolasen

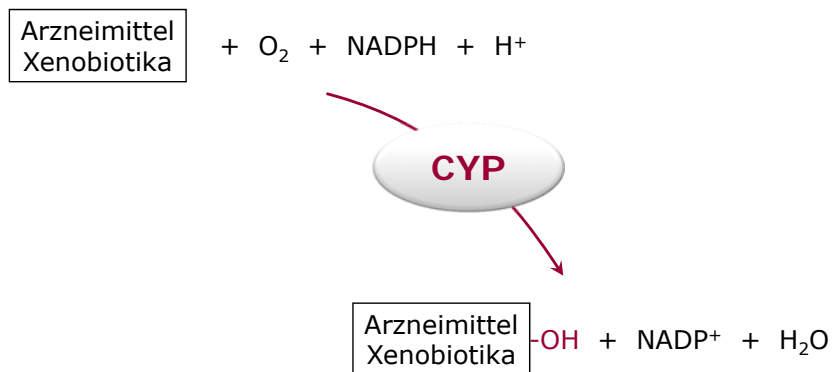
Arzneimittelmetabolismus – Phase I



Arzneimittelmetabolismus – Phase I

Cytochrom P450-abhängige Monooxygenasen (CYP)

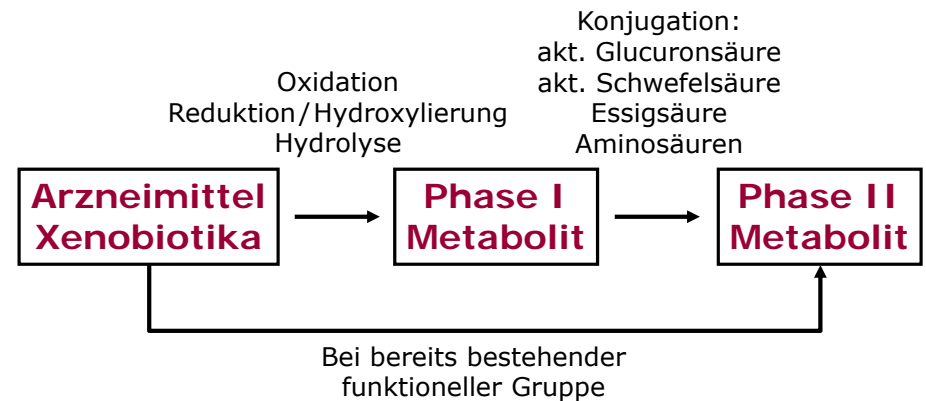
→ Wichtigster Reaktionstyp Hydroxylierung



→ Reduktionsmittel NADPH; Flavine (z.B. Vit B₂); Flavoproteine; Ferredoxine

Arzneimittelmetabolismus

Biotransformation: Lipophil → Hydrophil

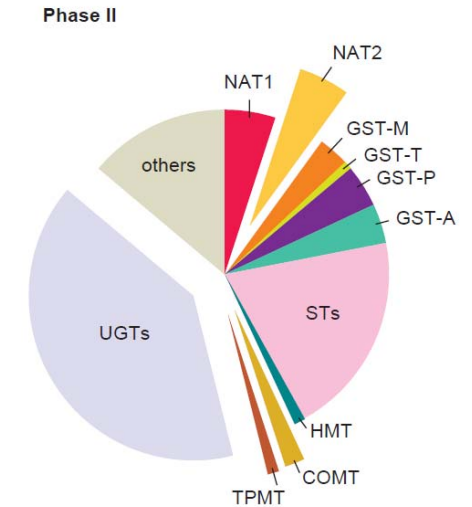


Arzneimittelmetabolismus

Phase II → Konjugationsphase

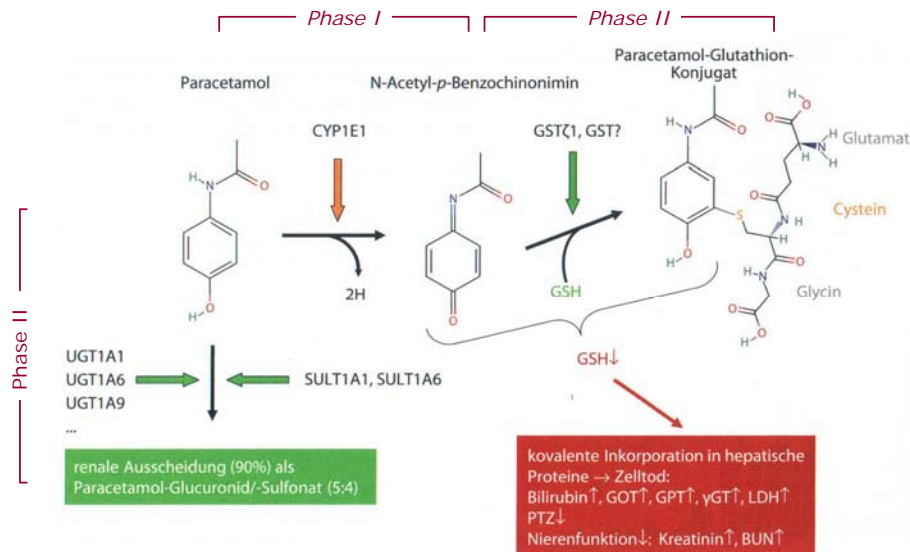
- Konjugation an endogenes Substrat
- Resultierende Arzneimitelkonjugate sind meist inaktiv
- Enzyme der Konjugation:
 - UDP-Glucuronosyl-Transferasen (UGT-Enzyme) → Glucuronsäure
 - Sulfotransferasen (SULT-Enzyme) → Schwefelsäure
 - N-Acetyltransferasen (NAT-Enzyme) → Essigsäure
 - Glutathion-S-Transferase (GST-Enzyme) → Glutathion
 - Methyltransferasen → Methylgruppen

Arzneimittelmetabolismus – Phase II



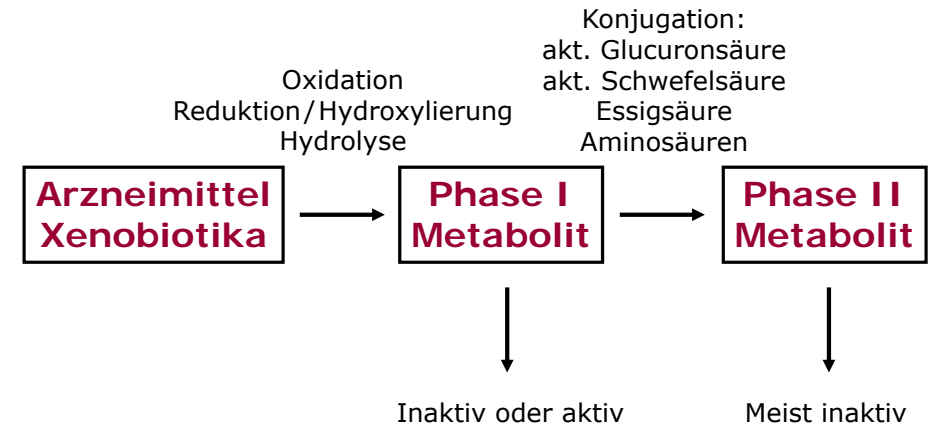
Arzneimittelmetabolismus – Phase II

Beispiel – Paracetamol (Acetaminophen)



Arzneimittelmetabolismus

Biotransformation: Lipophil → Hydrophil



Arzneimittelmetabolismus

Biotransformation: Lipophil → Hydrophil

Konjugation:
akt. Glucuronidation

Biotransformation ist beeinflussbar durch:

- Arzneimittelwechselwirkungen
- Genetische Prädisposition (Pharmakogenetik)
- Alter, Geschlecht
- Erkrankungen (Leberschädigungen)
- Rauchen, Alkohol (Enzyminduktion)

Arznei
Xenob

Phase II
bolit

17

Arzneimittelmetabolismus: Alter

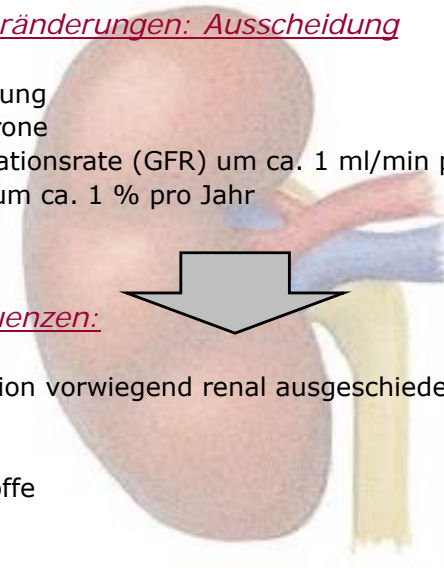
Altersbedingte Veränderungen: Ausscheidung

- Renale Durchblutung
- Anzahl der Nephronen
- Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) um ca. 1 ml/min pro Jahr
- Tubulusfunktion um ca. 1 % pro Jahr

Klinische Konsequenzen:

Verzögerte Elimination vorwiegend renal ausgeschiedener Arzneimittel

- Amphotericin
- Aminoglykoside
- Gyrase-Hemmstoffe
- Atenolol
- Digoxin



18

Arzneimittelmetabolismus: Alter

Altersbedingte Veränderungen: Biotransformation

- Lebergröße (bis 40%)
- Leberdurchblutung (bis 30%)
- Abnahme der Enzymaktivität vor allem CYP-abhängige Phase I Reaktionen
- Phase II Reaktionen meist nicht beeinflusst

Klinische Konsequenzen:

Höhere Serumkonzentrationen von Arzneimitteln mit einem starken 'first-pass effect' und/oder einer 'high clearance' durch bessere Bioverfügbarkeit und langsamere Elimination

- Propranolol
- Metoprolol



19

Arzneimittelmetabolismus

Ziele des Kurses:

- Arzneimittelmetabolismus
→ Phase I und II Reaktionen
- **Arzneimittelinteraktionen – Unerwünschte Wirkungen**
- Pharmakogenetik - Polymorphismen

20

Arzneimittelinteraktionen

Arzneimittelinteraktionen

→ Pharmakokinetische und/oder pharmakodynamische Wirkung auf Grund der inhärenten Eigenschaften der beteiligten Arzneimittel

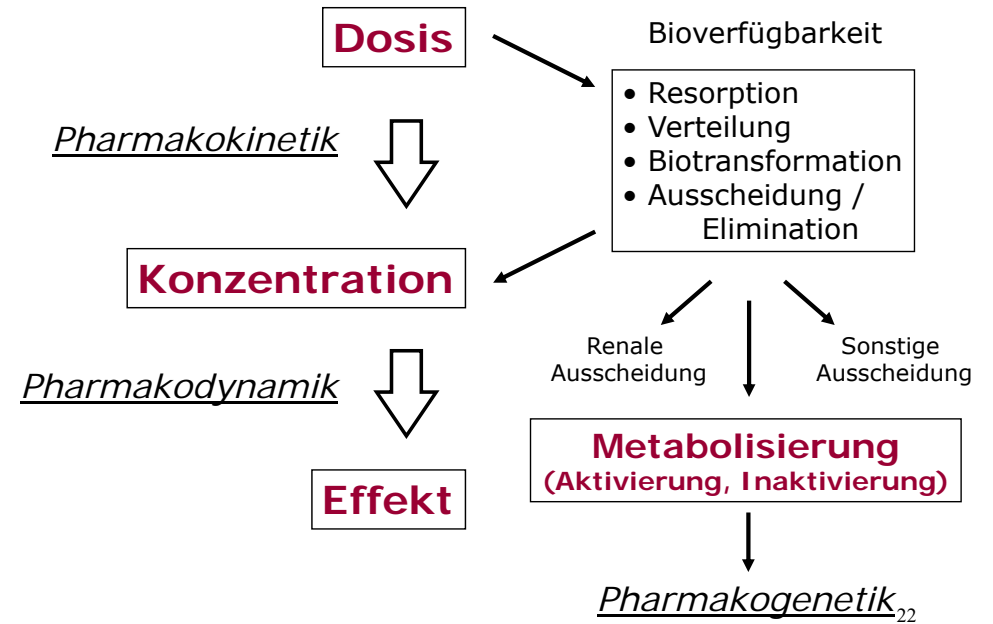
Pharmakogenetik

→ Interindividuelle, genetische Unterschiede bestimmen die (unerwünschte) Wirkung der Arzneimittel

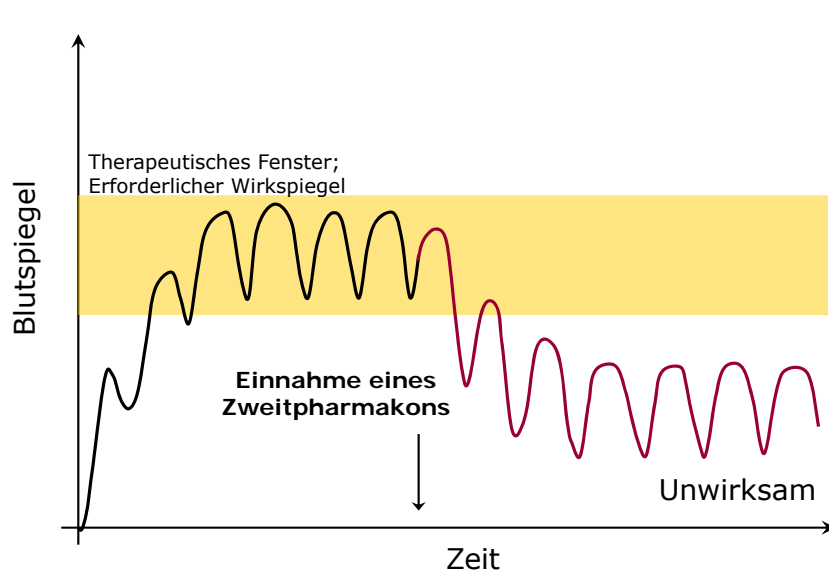
- Polymorphismen → häufig (>1%)
- Mutationen → selten (<1%)

21

Arzneimittelinteraktionen

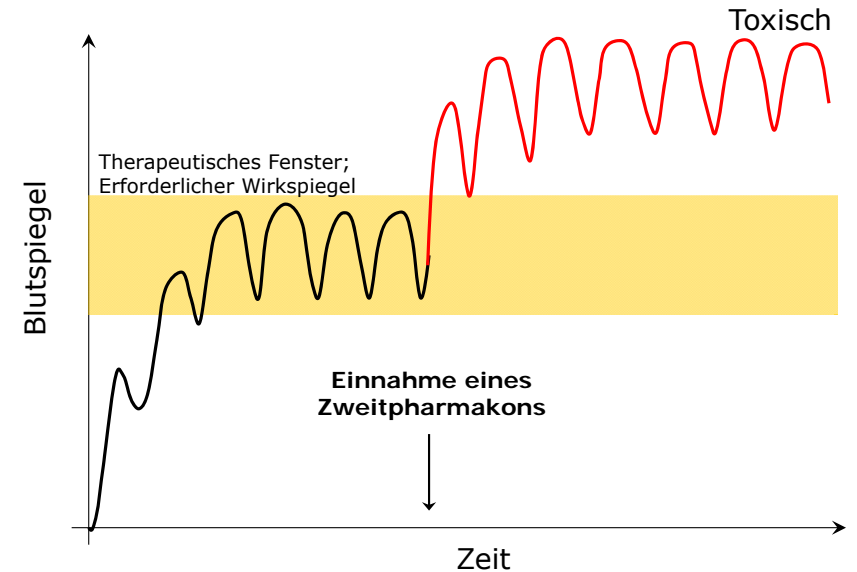


Arzneimittelinteraktionen



23

Arzneimittelinteraktionen



24

Arzneimittelinteraktionen

Pharmakokinetische Interaktionen I

1) Resorption:

- Veränderung des pH-Wertes durch das Erstpharmakon → Veränderung der Resorptionsrate des Zweitpharmakons in der Magen-Darm Passage
- Erhöhte Resorptionsrate lipophiler Substanzen (z.B durch Milch, Fette)
- Verlängerung oder Verkürzung der Magen-Darm Passage (z.B. Loperamid, Laxantien)
- Komplexbildung (z.B. Tetracycline mit Mg-, Ca-, Fe-Salzen; Milch)
- Schädigung der Darmflora (Antibiotika)

2) Verteilung / Distribution:

- Veränderung des Verteilungsgleichgewichts
- Konkurrenz um Rezeptorbindungsstellen
- Verdrängung bei höherer Bindungsaffinität

25

Arzneimittelinteraktionen

Pharmakokinetische Interaktionen II

3) Biotransformation:

- Konkurrenz um Bindungsstellen an Enzyme, die zur Biotransformation / Aktivierung benötigt werden (Zytochrom P450 (CYP450) Superfamilie) → Verzögerter Effekt, toxische Nebenprodukte, schnellere Elimination
- Konkurrenz um Bindungsstellen an Enzyme, die zur Biotransformation / Eliminierung benötigt werden (CYP450 Superfamilie) → Verlängerter Effekt, erhöhte Konzentration bis in den toxischen Bereich
- Enzyminduktion durch Barbiturate → schnellere Biotransformation (Aktivierung und Elimination)

4) Ausscheidung / Elimination:

- Veränderung des pH-Wertes im Urin → Veränderte Sekretionsrate und/oder Rückresorption
- Erhöhte Elimination durch Gabe von Schleifendiuretika (z.B. Furosemid)

26

Arzneimittelinteraktionen

Pharmakodynamische Interaktionen

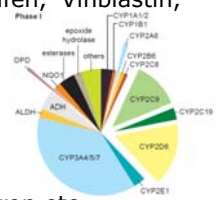
Synergistische oder antagonistische Wirkung der interferierenden Substanzen

- Rezeptorregulation ↑ oder ↓
- Beeinflussung eines Feedback-Loops (Regelkreis)
- Induzierung eines „Toleranz“- oder „Sucht“-Effekts durch ein Zweitpharmakon

27

Arzneimittelinteraktionen: Beispiel – CYP3A4

- Metabolismus einiger besonders lipophiler Substanzen
- CYP3A4-Substrate:
 - Zytostatika: Cyclophosphamid, Etoposid, Doxorubicin, Tamoxifen, Vinblastin, Paclitaxel (Taxol)
 - Immunsuppressiva: Cyclosporin, Tacrolimus, Sirolimus
 - Benzodiazepine: Diazepam, Midazolam
 - Antidepressiva: Imipramin
 - Proteaseinhibitoren: Indinavir, Sequinavir
 - Statine: Lovastatin, Atorvastatin, Cerivastatin
 - Verschiedene: Lidocain, Warfarin, Phenytoin, Loratadin, Amiodaron etc.
- CYP3A4-Hemmstoffe: Clarithromycin, **Grapefruitsaft**, Ketoconazol, Cimetidin, Erythromycin, Verapamil → Abbau verlangsamt → Wirkungen und Nebenwirkungen verstärkt
- CYP3A4-Induktoren: Carbamazepin, Phenytoin, Rifampicin, Barbiturate und **Johanniskraut** → beschleunigen Abbau → Verminderung/Verlust der Wirkung (empfangnisverhütende Wirkung von Kontrazeptiva)



28

Arzneimittelinteraktionen: Enzyminhibition

- Hemmung metabolisierender Enzyme → Inhibition des Pharmakon-Abbaus
- Arzneimittelinteraktionen → ein Pharmakon hemmt den Abbau eines anderen

Mechanismen:

- **Kompetitive Hemmung**
 - Substrat und Inhibitor konkurrieren um Bindung an aktives Zentrum
 - Verdrängung möglich
 - Suizid-Inhibitoren: Kovalente Bindung im aktiven Zentrum → Keine Verdrängung möglich
- **Nichtkompetitive Hemmung**
 - Inhibitor bindet nicht an aktives Zentrum, sondern an entfernte Stelle
 - Konformationsänderungen, die aktives Zentrum betreffen (allosterische WW)
 - Substratbindung / -umsatz beeinträchtigt

Inhibition des Abbaus von	Anwendung	durch Inhibitor	Wirkung
Warfarin (Cumarin-Derivat)	Antikoagolanz (Vitamin K Antagonist)	Chloramphenicol, Cimetidin, Omeprazol	Blutungsgefahr
Tolbutamid (Sulfonylharnstoff)	Typ 2 Diabetes (Insulinsekretion ↑)	Chloramphenicol, Cumarin-Derivate	Hypoglykaemie
Diphenylhydantoin (Phenytoin)	Antikonvulsivum/Epilepsie (Na-Kanal Antagonist)	Chloramphenicol, Cumarin-Derivate	Ataxie, Verwirrtheit
Diazepam (Benzodiazepin)	Beruhigungsmittel (GABA _A -Rez. Agonist)	Cimetidin	verstärkter, verlängerter Effekt
Propranolol, Metoprolol (Beta-Blocker)	Hypertonie, Herzinsuff. etc. (β-Adrenozeptor Antag.)	Cimetidin	verstärkter, verlängerter Effekt

Arzneimittelinteraktionen: Enzyminduktion

- Aktivitätserhöhung des metabolisierenden Enzymsystems durch wiederholte Pharmakazufuhr
- Gesteigerter Abbau der induzierenden Substanz und **anderer Pharmaka**
- Rascher Anstieg der Metabolisierungskapazität innerhalb weniger Tage
- Langsamer Abfall auf Ursprungsniveau nach Absetzen des Induktors

Beschleunigung des Abbaus von	durch Enzyminduktion mit
Bilirubin	Phenobarbital
Kortisol	Phenytoin
Vitamin D	Phenytoin, Phenobarbital
Östrogenen, Gestagenen	Rifampicin, Phenytoin
Digitoxin	Phenobarbital, Phenybutazon
Antikoagulantien (Cumarintyp)	Phenobarbital

Arzneimittelinteraktionen: CYP3A4



Grapefruitsaft

- **Wirksubstanzen:** Furanocoumarine (Furocoumarine) – Bergamottin und Dihydroxybergamottin (Furanocoumarinfreier Grapefruitsaft hat keinen Einfluss auf CYP3A4)
- **Irreversible Hemmung von CYP3A4** in der Darmwand → Perorale Gabe des Medikaments betroffen
- Abbau des Medikaments wird verzögert und gleichzeitig wird der intestinale ‚first pass‘ Effekt verringert → Bioverfügbarkeit nimmt zu
- **Effekt ca. 4h nach Einnahme >24 h aktiv**

Arzneimittelinteraktionen: CYP3A4



Johanniskraut (St. John's Wort)

- **Wirksubstanzen:** Hyperforin und Hypericin
- Geringe bis mittelstarke cerebrale Wiederaufnahmehemmung von Serotonin, Noradrenalin und Dopamin → Antidepressivum
- **Induziert CYP3A4** (und weniger stark CYP2C9) in der Leber → Abbauraten von Arzneimitteln steigt → Wirkung erniedrigt
- Metabolisiert u.a. Hormone → Wirkung der Anti-Baby-Pille und anderer hormoneller Verhütungsmittel beeinträchtigt
- Wechselwirkung mit AIDS-Medikamenten (Proteaseshemmer), Antibiotika, Antidepressiva → Therapieversagen
- Immunsuppressiva abgeschwächt → Transplantations-Abstoßung möglich, Therapie von Autoimmunkrankheiten oder chronischer Entzündungen beeinträchtigt

Arzneimittelmetabolismus

Ziele des Kurses:

- Arzneimittelmetabolismus
 - Phase I und II Reaktionen
- Arzneimittelinteraktionen – Unerwünschte Wirkungen
- **Pharmakogenetik - Polymorphismen**

33

Arzneimittelinteraktionen

Arzneimittelinteraktionen

→ Pharmakokinetische und/oder pharmakodynamische Wirkung auf Grund der inhärenten Eigenschaften der beteiligten Arzneimittel

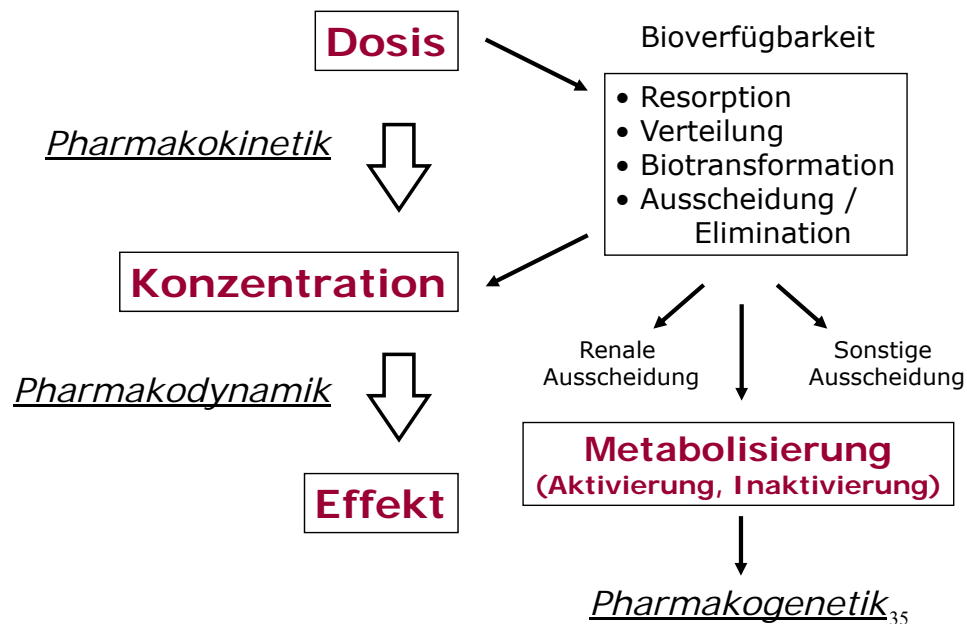
Pharmakogenetik

→ Interindividuelle, genetische Unterschiede bestimmen die (unerwünschte) Wirkung der Arzneimittel

- Polymorphismen → häufig (>1%)
- Mutationen → selten (<1%)

34

Pharmakogenetik

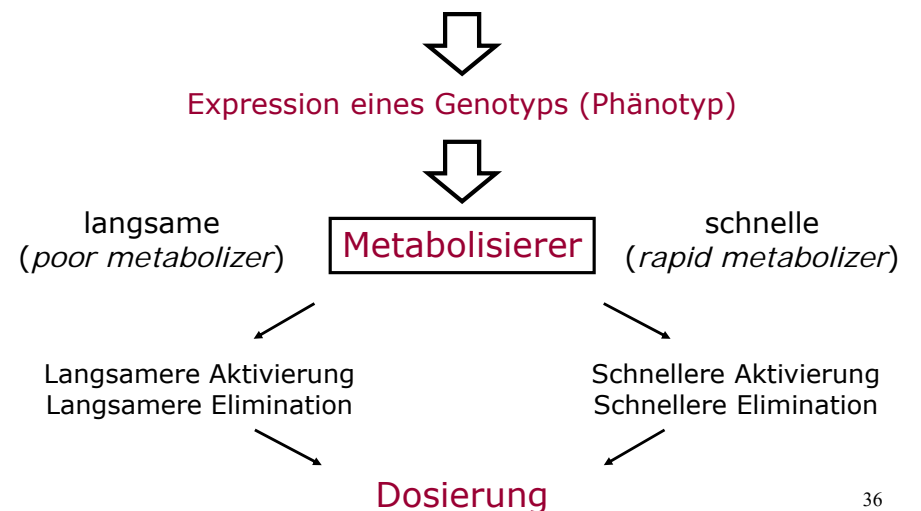


35

Pharmakogenetik

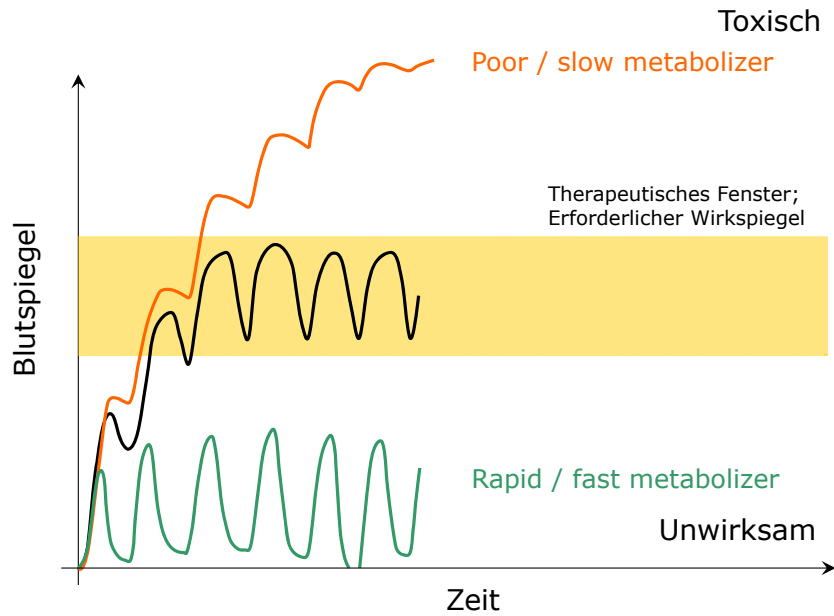
Wirkdifferenzen durch genetische Polymorphismen

→ Mindestens zwei Genotypen
→ Allelhäufigkeit von mindestens 1%



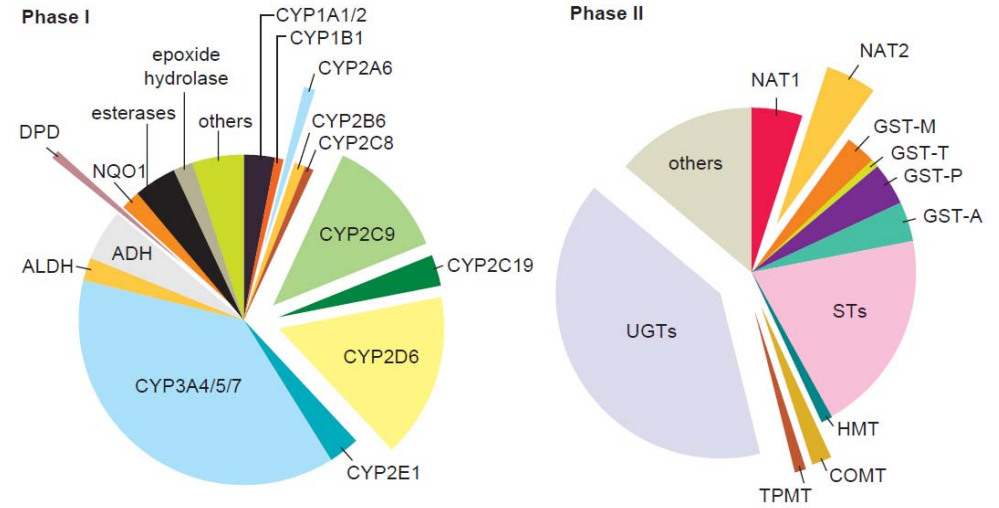
36

Pharmakogenetik



37

Pharmakogenetik: Polymorphismen

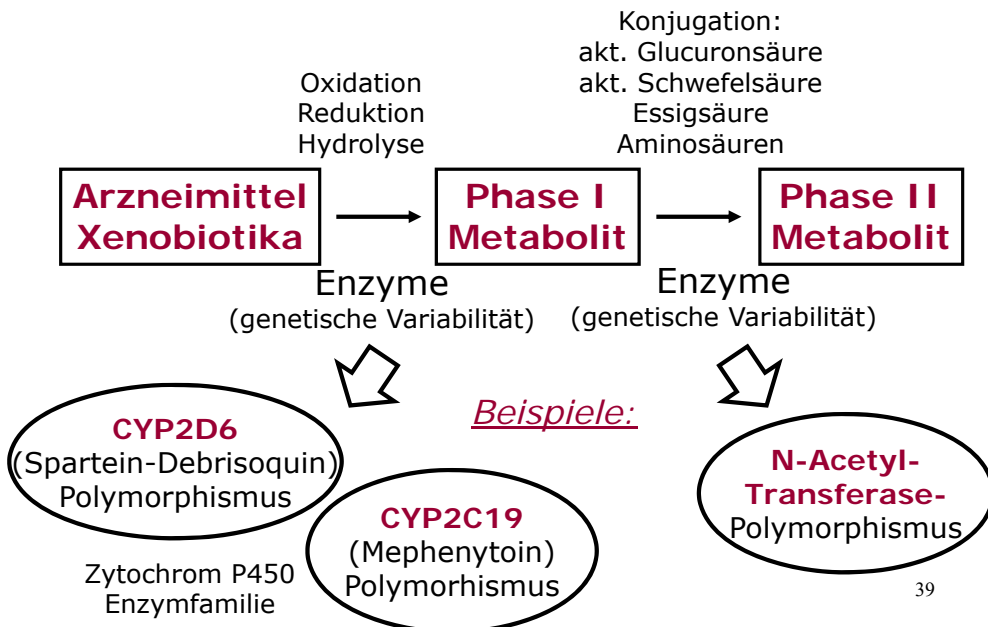


38

Science 286: 487-491 (1999)

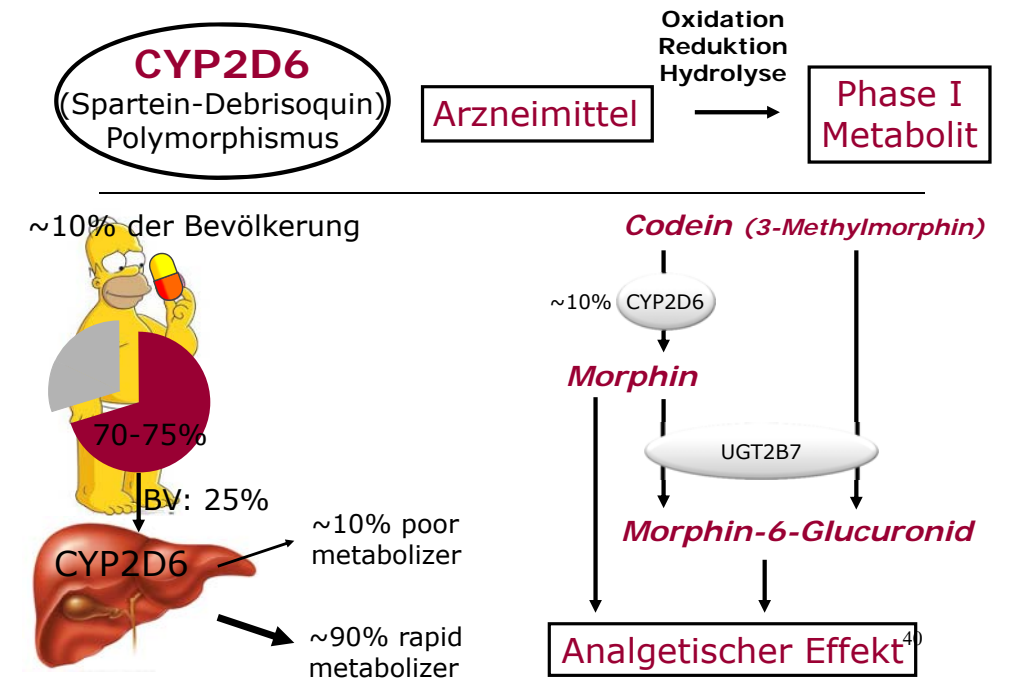
Pharmakogenetik

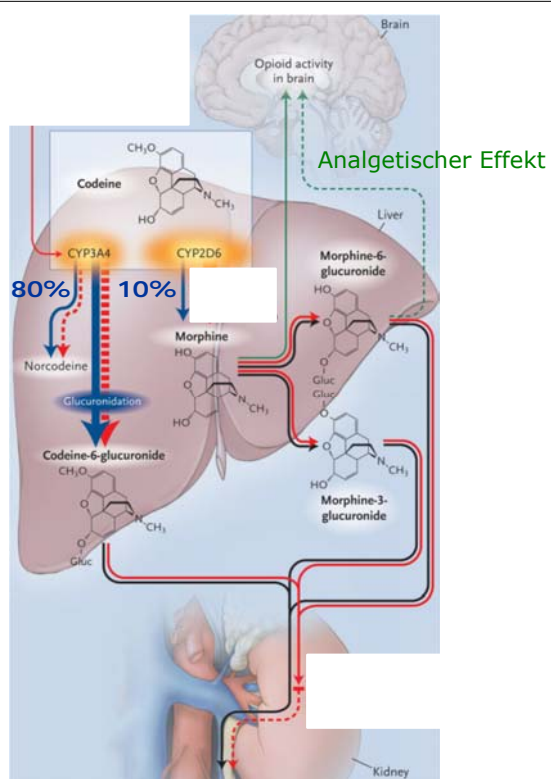
Biotransformation: Lipophil → Hydrophil



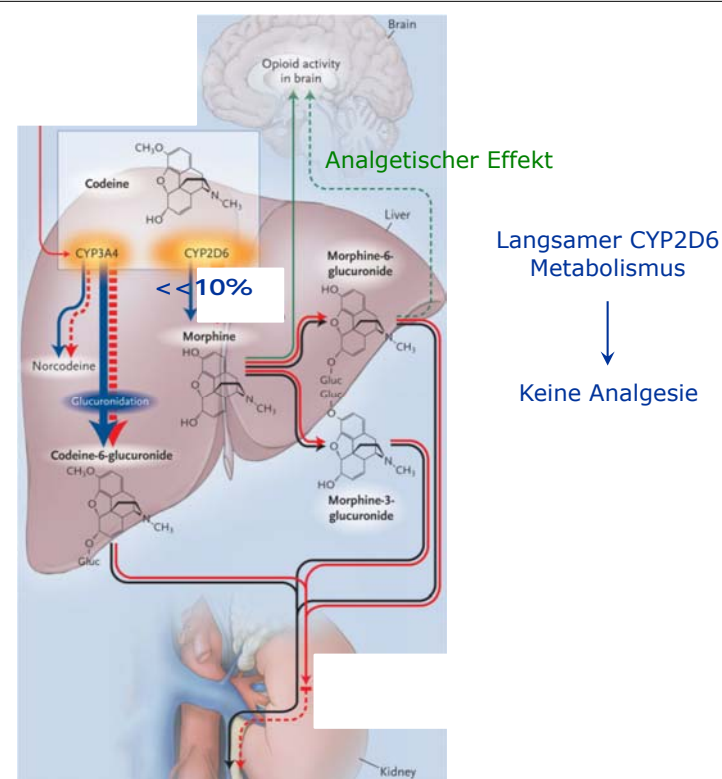
39

Pharmakogenetik: Beispiele – CYP2D6

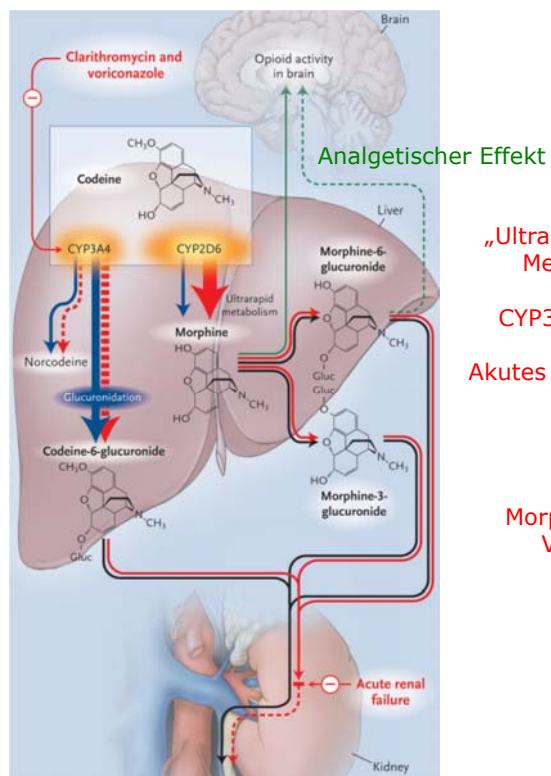




41



42

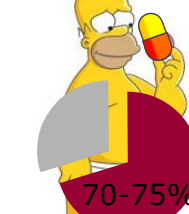


43

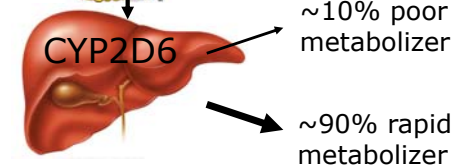
Pharmakogenetik: Beispiele – CYP2D6



~10% der Bevölkerung



BV: 25%



- β -Blocker (Propranolol; Debrisoquin)
- Antiarrhythmika (Sparteine)
- Antidepressiva
- Neuroleptika
- Opiode (Codein)

44

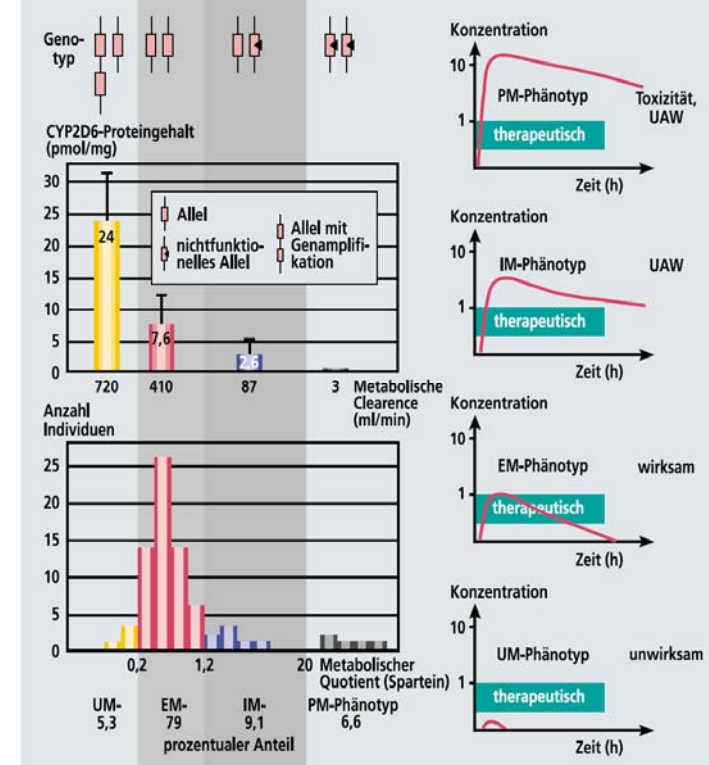
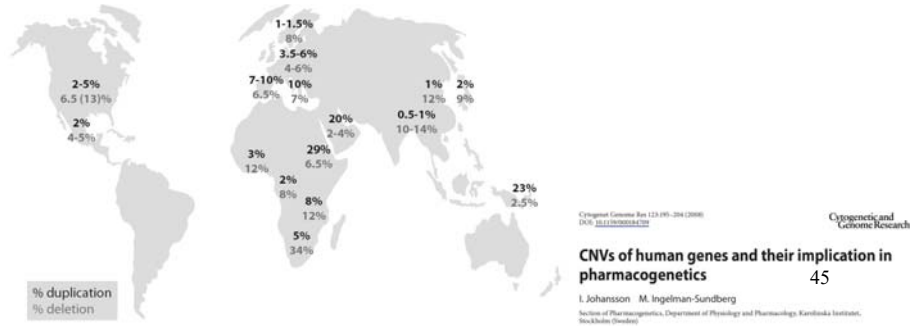
Pharmakogenetik: Beispiele – CYP2D6

Table 3 Major human polymorphic variant CYP2D6 alleles and their global distribution. For a complete list, see <http://www.imm.ki.se/cypalleles/cyp2d6.htm>

Major variant alleles	Mutation	Consequence	Allele frequencies (%)			
			Caucasians	Asians	Black Africans	Ethiopians and Saudi Arabians
CYP2D6*2xn	Gene duplication/multiduplication	Increased enzyme activity	1-5	0-2	2	10-16
CYP2D6*4	Defective splicing	Inactive enzyme	12-21	1	2	1-4
CYP2D6*5	Gene deletion	No enzyme	2-7	6	4	1-3
CYP2D6*10	P34S, S486T	Unstable enzyme	1-2	51	6	3-9
CYP2D6*17	T107I, R296C, S486T	Altered affinity for substrates	0	0	20-35	3-9

For further allele frequencies in different populations, see Bradford.⁵²

CYP2D6 gene duplication and deletion: population frequencies



Pharmakogenetik der Zytochrom-P-450-Enzyme

46

Pharmakogenetik: Beispiele – CYP2D6

Empfohlene Dosierung für CYP2D6 metabolisierte Antidepressiva

Table 4 Approximate dose adjustments according to the CYP2D6 phenotype as based on the meta-analysis by Kirchheiner *et al.*⁴⁵ Recommended dosages in relation to recommended one are presented for the poor metaboliser (PM), intermediate metaboliser (IM), efficient metaboliser (EM) and ultrarapid metaboliser (UM) phenotypes

	PM	IM	EM	UM
Antidepressants				
Imipramine	30	75	130	180
Doxepin	35	77	120	170
Maprotiline	35	77	120	170
Trimipramine	37	83	125	175
Desipramine	40	76	117	165
Nortriptyline	48	90	115	155
Clomipramine	60	85	112	145
Paroxetine	65	90	108	143
Venlafaxine	68	85	105	130
Amitriptyline	70	90	105	135
Mianserin	70	87	110	135
Antipsychotics				
Perphenazine	30	80	130	170
Thioridazine	37	82	127	165
Olanzapine	50	100	120	155
Zuclopenthixol	55	85	115	142
Aripiprazole	60	85	112	130
Flupentixol	68	80	117	135
Haloperidol	67	90	108	126

For the antidepressants mirtazapine, moclobemide, fluoxetine, maprotiline, bupropion, nefazodone, citalopram and sertraline as well as the antipsychotics perazine, risperidone, pimozide, clozapine, levomepromazine, olanzapine no significant dose adjustments based on CYP2D6 was recommended.

Pharmakogenetik



Microarrays:

- > 15'000 versch. Sonden
- 25 bp Oligonukleotide
- 10⁷ Kopien pro Sonde
- Hybridisierung mit Proben-DNA
- Fluoreszenzmikroscanner



Analyse von Genexpressionsmustern

Pharmakogenetik

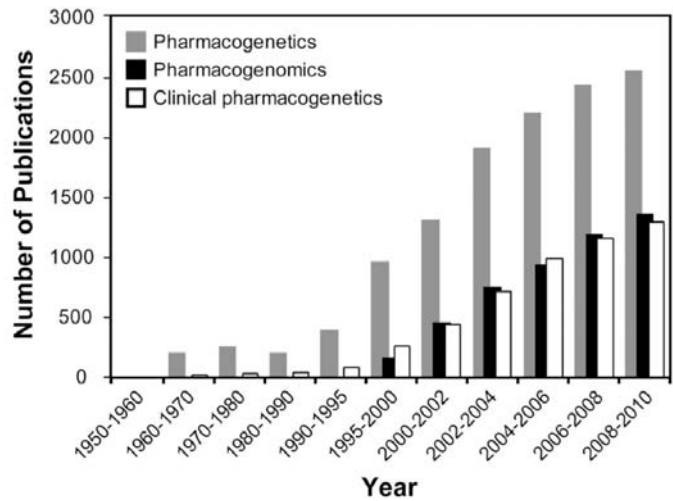
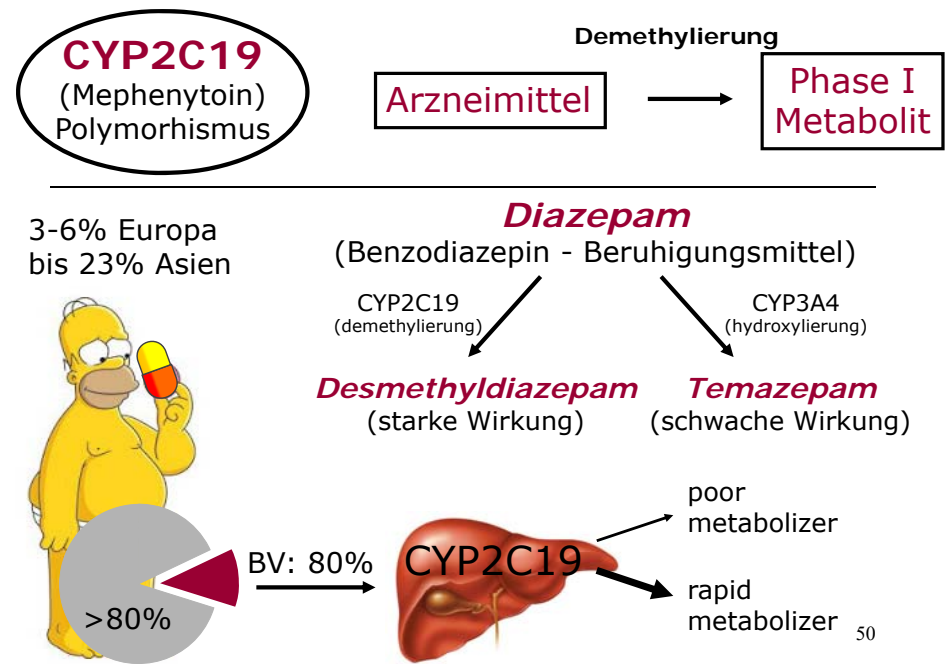


Fig. 1. Number of PubMed citations (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) by date using the keywords "pharmacogenetics," "pharmacogenomics," or "clinical pharmacogenetics."

Personalizing medicine with clinical pharmacogenetics
 Stuart A. Scott, PhD
 Department of Genetics and Genomic Sciences, Mount Sinai School of Medicine, New York, New York
Genet Med. 2011 December ; 13(12): 987-995.

Pharmakogenetik: Beispiele – CYP2C19

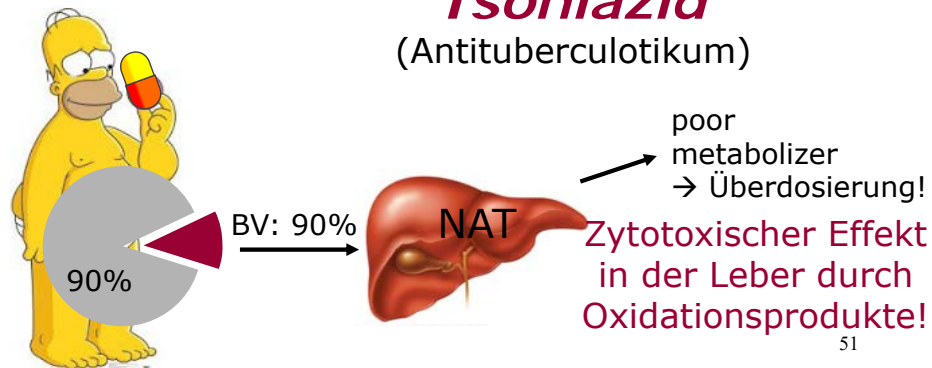


Pharmakogenetik: Beispiele – NAT



50% Europa
 70-90% Asien

Isoniazid
 (Antituberculotikum)

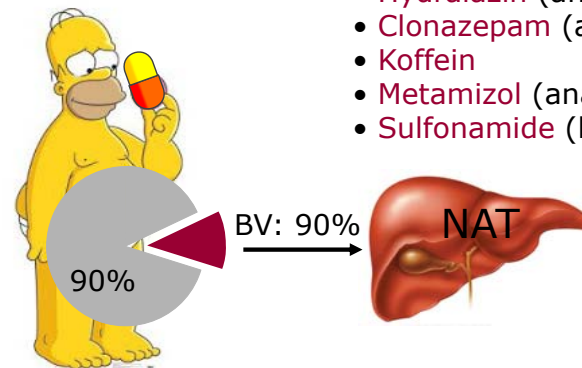


Pharmakogenetik: Beispiele – NAT



50% Europa
 70-90% Asien

- Isoniazid (anti-tuberculotikum)
- Hydralazin (anti-hypertonikum)
- Clonazepam (anti-epileptikum)
- Koffein
- Metamizol (analgetikum)
- Sulfonamide (bacteriostatika)



Pharmakogenetik: Weitere Beispiele I

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase Mangel

- Antimalariamittel: **Primaquin, Dapson** → schwere Hämolyse bei ~10% aller Afrikanern, Griechen, Sarden und Indern
- **G-6PD**: NADPH-Synthese durch Oxidation von Glucose-6-phosphat
- **NADPH**: Regeneration von GSH
- **GSH-Mangel**: Erhöhte Disulfidbrückenbildung in Erythrozytenmembranen → Membranstabilität
- **Primaquin** und **Dapson** werden durch Konjugation an GSH eliminiert → erniedrigen den GSH-Spiegel weiter
- Paracetamol wird auch durch GSH-Konjugation eliminiert (N-acetylcystein Gabe bei Paracetamolvergiftung)

53

Pharmakogenetik: Weitere Beispiele II

Methämoglobin-Reduktase-Mangel

- Methämoglobin kann Sauerstoff nicht binden / transportieren
- Methämoglobin-Reduktase reduziert Fe^{3+} des Methämoglobins wieder zu Fe^{2+} (Hämoglobin) → Bindung von Sauerstoff wird wieder möglich
- Methämoglobin-Reduktase-Mangel → Erhöhter Methämoglobinspiegel
- Methämoglobin-Reduktase-Mangel → Vergiftungen durch Methämoglobinbildner gefährlicher (Chlorate, Perchlorate, Nitrite, Nitrate, aromatische Amine)
- Redoxfarbstoffe (Toloniumchlorid/Toluidinblau) können die Methämoglobin-Reduktase unterstützen und die Reduktion zu Fe^{2+} beschleunigen → Antidot bei Vergiftungen

54

Pharmakogenetik: Weitere Beispiele III

Maligne Hyperthermie:

- Seltener genetischer Defekt eines autosomal-dominanten Gens, das den sarkoplasmatischen Ca^{2+} -Transport regelt
- Auslöser: Inhalationsnarkotika, Muskelrelaxantien → Plötzliche Freisetzung von Ca^{2+} aus dem sarkoplasmatischen Retikulum der Skelettmuskulatur
- Symptome: Unkontrollierte Muskelzuckungen während der Relaxationsphase mit sehr hohem O_2 -Verbrauch und grosser Wärmebildung → Azidose, Hyperkaliämie, Tachykardie, Arrhythmien, Hyperthermie
- Therapie: Absetzen des Narkotikums/Muskelrelaxans, Gabe von Freisetzungshemmern (**Dantrolen**) (=Hemmung der Muskelrelaxantien), Kühlung

55

Arzneimittelmetabolismus

Ziele des Kurses:

- Arzneimittelmetabolismus
- Phase I und II Reaktionen
 - **Lipophil** → **Hydrophil**
- Arzneimittelinteraktionen – Unerwünschte Wirkungen
 - **Pharmakokinetische / pharmakodynamische Interaktionen**
 - **Toleranz**
 - **Gegenseitige Inhibition / Induktion**
- Pharmakogenetik – Polymorphismen
 - **Polymorphismen sind häufig**
 - **CYP450 Superfamilie, NAT, etc**
 - **Seltene Mutationen (G6P-dehydrogenase, Methämoglobin-Reduktase, Maligne Hyperthermie)**

56