

**Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Universität Tübingen
Abteilung Klinische Pharmakologie
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. M. Schwab**

**Untersuchung zur pharmakokinetischen Interaktion
zwischen Budesonid und Metronidazol
bei gesunden Freiwilligen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

**Daniel Günter Röck
aus**

Sigmaringen

2009

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. C. H. Gleiter

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. M. Kohlhäuf

Widmung

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

<u>1. Einleitung</u>	<u>1</u>
<u>1.1. Morbus Crohn</u>	<u>1</u>
<u>1.2. Budesonid</u>	<u>1</u>
<u>1.2.1. Pharmakokinetik</u>	<u>2</u>
<u>1.2.2. Pharmakodynamik</u>	<u>3</u>
<u>1.2.3. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen</u>	<u>3</u>
<u>1.3. Metronidazol</u>	<u>4</u>
<u>1.3.1. Pharmakokinetik</u>	<u>5</u>
<u>1.3.2. Pharmakodynamik</u>	<u>6</u>
<u>1.3.3. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen</u>	<u>6</u>
<u>1.4. Pharmakokinetische Interaktionen</u>	<u>7</u>
<u>1.4.1. Interaktion Metronidazol → Budesonid</u>	<u>8</u>
<u>1.4.2. Interaktion Budesonid → Metronidazol</u>	<u>9</u>
<u>1.5. Zusammenfassung der Studie</u>	<u>10</u>
<u>1.6. Studienziele</u>	<u>11</u>
<u>2. Material und Methoden</u>	<u>12</u>
<u>2.1. Studienprobanden</u>	<u>12</u>
<u>2.2. Studienmedikation</u>	<u>14</u>
<u>2.2.1. Verabreichung der Studienmedikation</u>	<u>15</u>
<u>2.2.2. Begleitmedikation</u>	<u>16</u>
<u>2.3. Studiendesign und Studienablauf</u>	<u>17</u>
<u>2.3.1. Mahlzeiten und Einschränkungen</u>	<u>17</u>
<u>2.3.2. Abnahme, Lagerung und Verarbeitung der Blutproben</u>	<u>18</u>
<u>2.3.3. Sicherheitslabor</u>	<u>20</u>
<u>2.3.4. Urinsammlung zur Bestimmung der Ausscheidung von freiem Cortisol und 6β-Hydroxycortisol</u>	<u>21</u>
<u>An den Studientagen 1 und 9 wurde 12 Stunden lang nach Medikamentengabe Urin gesammelt, in dem die Ausscheidung von Cortisol und 6β-Hydroxycortisol bestimmt wurde. Dies ist ein valides Verfahren zur Beurteilung einer Induktion oder Hemmung des CYP3A-assoziierten Arzneimittel-Metabolismus (Galteau und Shamsa, 2003). Jeder Proband sollte innerhalb von 30 min vor der Medikamenteneinnahme und am Ende der Sammelperiode seine Blase entleeren. Während der Sammelperiode wurden die Urinportionen in einem Polypropylenbehälter gesammelt und bei 4-8°C in einem Kühlschrank aufbewahrt. Nach der abgeschlossenen Sammelperiode wurden die Urinbehälter der einzelnen Probanden durchgemischt und das Gesamtvolumen des Urins jedes Behälters bestimmt (1 g $\hat{=}$ 1 ml). Für die bevorstehende Analyse des freien Cortisol und 6β-Hydroxycortisol wurden 10 ml der gesamten Urinportion jedes Probanden bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren.</u>	<u>21</u>
<u>2.4. Analytische Methoden</u>	<u>21</u>
<u>2.5. Pharmakokinetische und pharmakodynamische Auswertungen</u>	<u>23</u>
<u>2.6. Statistische Auswertung</u>	<u>23</u>
<u>2.7. Rechtliche Grundlagen</u>	<u>24</u>
<u>3. Ergebnisse</u>	<u>26</u>
<u>3.1. Zusammensetzung der Studienteilnehmer</u>	<u>26</u>
<u>3.2. Pharmakokinetische Daten von Budesonid</u>	<u>26</u>

3.2.1. Konzentrationen und pharmakokinetische Parameter	26
3.2.2. Vergleich von Budesonid zwischen Studientag 1 und 9	29
3.3. Pharmakokinetische Daten der Phase-I-Metaboliten	30
3.3.1. Konzentrationen und pharmakokinetische Parameter von 6 β -Hydroxybudesonid	30
3.3.2. Vergleich von 6 β -Hydroxybudesonid zwischen Studientag 1 und 9	33
3.3.3. Konzentrationen und pharmakokinetische Parameter von 16 α -Hydroxyprednisolon	33
3.3.4. Vergleich von 6 β -Hydroxybudesonid zwischen Studientag 1 und 9	37
3.4. Ratios der CYP3A-abhängigen Metabolitenbildung aus Budesonid	37
3.5. Pharmakokinetische Ergebnisse von Metronidazol	38
3.5.1. Konzentrationen und pharmakokinetische Parameter	38
41	
3.5.1. Vergleich von Metronidazol zwischen Studientag 8 und 9	41
3.6. Pharmakodynamische Ergebnisse	42
3.6.1. Vergleich der Biotransformation von Cortisol zwischen Studientag 1 und 9	42
4. Diskussion	44
4.1. Diskussion der Methode	44
4.2. Die Rolle der CYP3A-Enzyme bei Arzneimittel-Interaktionen	44
4.3. Metronidazol als Inhibitor von CYP3A	45
4.4. Metronidazol ohne Effekt auf CYP3A	47
4.5. Wirkung von Metronidazol auf Budesonid	48
4.6. Metronidazol als Inhibitor von P-gp	50
5. Zusammenfassung	51
6. Literaturverzeichnis	52
7. Danksagung	63

Abkürzungen:

Abb.	Abbildung
Ae	Summe der im Urin ausgeschiedenen Metaboliten
AUC	area under the curve
AUC _(0-∞)	area under the curve von Zeitpunkt 0 gegen unendlich
AUC _(0-24 h)	area under the curve von Zeitpunkt 0 bis 24 h
BMI	body mass index
CI	Konfidenzintervall
CL	Clearance
C _{max}	maximale Konzentration
C _{ss,max}	maximale Konzentration im steady state
C _{ss,av}	durchschnittliche Konzentration im steady state
CYP	Cytochrom P450
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
GCP	good clinical practice
GMP	good manufacturing practice
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
γ-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
HBsAg	Hepatitis-B-surface-Antigen
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ICH	International Conference on Harmonisation
INR	international normalized ratio
KG	Körpergewicht
LC/MS-MS	Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry
MCH	mean corpuscular hemoglobin, Hämoglobingehalt
MCV	mean corpuscular volume, Erythrozytenvolumen
MDR1	Multidrug-Resistance-1-Gen
MW	Mittelwert
P-gp	P-Glykoprotein
PTF	peak trough fluctuation
PTT	partial thromboplastin time (Thromboplastinzeit)
SD	Standardabweichung
t	Zeit

$t_{1/2}$	Halbwertszeit
t_{\max}	Zeit bis zum Erreichen der maximalen Konzentration
Tab.	Tabelle
V	Verteilungsvolumen

1. Einleitung

1.1. Morbus Crohn

Der Morbus Crohn ist eine chronische, in Schüben verlaufende, segmentär-diskontinuierliche Entzündung des gesamten Magen-Darm-Traktes. Am häufigsten wird der untere Abschnitt des Dünndarms, vor allem das terminale Ileum, und der Dickdarm befallen. Er ist neben der Colitis ulcerosa die wichtigste chronisch-entzündliche Darmerkrankung der westlichen Welt. Die Inzidenz liegt in Deutschland bei 5,2 Neuerkrankungen pro Jahr und 100.000 Einwohner. Die Prävalenz des M. Crohn liegt bei etwa 40-50 pro 100.000. Der Symptombeginn der Erkrankung liegt im Mittel bei 30 Jahren (Shivananda et al., 1996; Timmer et al., 1999). Die Ätiologie der Erkrankung ist nach wie vor unbekannt. Als klinische Leitsymptome werden Diarrhö, Gewichtsverlust, Unterbauchschmerzen und Fieber beschrieben. Die Therapie des Morbus Crohn basiert auf der Gabe von Glukokortikosteroiden und 5-Aminosalizylsäure-freisetzenden Präparaten sowie der Ernährungstherapie. Zusätzlich werden häufig Antibiotika wie zum Beispiel Metronidazol oder Immunsuppressiva wie Azathioprin oder Budesonid eingesetzt. Insbesondere bei der Therapie von perianalen Fisteln werden Antibiotika (Metronidazol und Ciprofloxacin) eingesetzt (Felley et al., 2007; Bressler und Sands, 2006). Außerdem kann Metronidazol bei der Prävention eines postoperativen Rezidivs helfen (Perencevich und Burakoff, 2006; Rutgeerts et al., 1995; Sutherland et al., 1991).

1.2. Budesonid

Budesonid ist ein nicht-halogeniertes, synthetisches Glukokortikosteroid (16 α ,17-butyldendioxy-11 β ,21-dihydroxy-1,4-pregnadien-3,20-dion), das vor allem zur Behandlung entzündlicher Atemwegserkrankungen und bei akuten Schüben des Morbus Crohn (3x3 mg/Tag für ungefähr 8 Wochen) verwendet wird. Strukturell ist es dem Hydrocortison ähnlich. Nach oraler Gabe erreicht eine adäquate Menge an Steroid die entzündeten Darmregionen. Nach

intestinaler Absorption unterliegt es in der Leber einem hohen First-Pass-Effekt. Dadurch werden systemische Nebenwirkungen, die für Glukokortikoide typisch sind, minimiert (Hofer, 2003).

1.2.1. Pharmakokinetik

Resorption

Budesonid aus der Kapsel Budenofalk® 3 mg wird pH-abhängig im Ileum freigesetzt und erzeugt durch eine gezielte Wirkstoffabgabe an entzündete Darmbereiche eine lokale Wirkung. Nach oraler Gabe wird Budesonid fast komplett vom Darm resorbiert. Aufgrund der pH-abhängigen Freisetzung ist die Resorption von oral gegebenem Budesonid in gesunden Freiwilligen um 2-3 Stunden verzögert; t_{max} beträgt 5,0 Stunden (95%-CI 4,2-5,3) (Dilger et al., 2005).

Nach oraler Verabreichung beträgt die absolute Bioverfügbarkeit von Budesonid bei gesunden Probanden ca. 10%. Die geringe Bioverfügbarkeit ergibt sich durch den intestinalen Rücktransport ins Darmlumen, vermittelt durch das P-Glykoprotein (P-gp), das Genprodukt des Multidrug-Resistance-1-Gens (MDR1), und durch die erhebliche Biotransformation mittels CYP3A im Darm und in der Leber (Dilger et al., 2004; Jönsson et al., 1995).

Verteilung

Das Verteilungsvolumen von Budesonid liegt bei 3 l/kg. Die Plasmaproteinbindung beträgt im Durchschnitt 85-90%.

Metabolismus

Budesonid wird schnell und in sehr hohem Maße im Darm und in der Leber in Metaboliten mit geringer Glukokortikoidaktivität umgewandelt. Die Glukokortikoidaktivität der Hauptmetaboliten 16 α -Hydroxyprednisolon und 6 β -Hydroxybudesonid beträgt nur 1-10% der Aktivität von Budesonid. Budesonid wird überwiegend über CYP3A metabolisiert (Jönsson et al., 1995), das ebenso die Umwandlung des endogenen Cortisols in 6 β -Hydroxycortisol katalysiert (Ged et al., 1989). Das Verhältnis von 6 β -Hydroxycortisol / Cortisol (= Cortisol-

Ratio) wird deshalb als valider Messparameter für die Induktion bzw. Hemmung des CYP3A-Metabolismus in Menschen und Tieren eingesetzt. Die Cortisol-Ratio wird durch Urinmessung bestimmt (Galteau and Shamsa, 2003).

Elimination

Die mittlere Eliminationshalbwertszeit nach oraler Einmalgabe von Budenofalk® 3 mg bei gesunden Freiwilligen beträgt 2,4 Stunden (95%-CI 1,9-3,4 h) (Dilger et al., 2005). Aufgrund der kurzen Eliminationshalbwertszeit von Budesonid kann die Pharmakokinetik der Einmalgabe von Budenofalk® 3 mg dazu benutzt werden, die Daten der Pharmakokinetik bei Mehrfachgaben vorauszusagen (Dilger et al., 2006).

1.2.2. Pharmakodynamik

Budesonid ist ein Glukokortikoid mit hoher lokaler Kortikoidwirkung im Darm und es besitzt eine hohe entzündungshemmende Wirkung. Aufgrund der raschen Metabolisierung von Budesonid in der Leber sind auch bei Langzeitanwendungen in therapeutischen Dosen klinisch relevante unerwünschte systemische Steroideffekte, wie zum Beispiel eine Depression der körpereigenen Kortisolproduktion, nicht zu erwarten. Bei einer ähnlich effektiven Dosierung von Budesonid wie bei systemisch wirksamen Glukokortikoiden stellt sich bei Budesonid eine signifikant geringere Unterdrückung des hypothalamisch-hypophysär-adrenergen Regelkreises ein.

1.2.3. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

Unter Budesonid wurden ca. 50% weniger Patienten mit unterdrückter Nebennierenfunktion und glukokortikoidabhängigen Nebenwirkungen wie zum Beispiel Cushing-Syndrom beobachtet im Vergleich zu Patienten, die mit äquipotenten Prednisolondosen behandelt wurden (Hofer et al., 2003).

Die meisten Nebenwirkungen von Budesonid treten nach lang anhaltender Therapie und nach hoher Dosierung auf, wie zum Beispiel allergische Exantheme, Striae rubrae, petechialer Hautausschlag, subkutane Hauteinblutungen, Steroid-Akne, verzögerte Wundheilung, Kontaktdermatitis,

aseptische Knochennekrosen (Femur und Caput humeri), Glaukom, Katarakt, Depression, Erregbarkeit, Euphorie, abdominale Beschwerden, Magengeschwür, Pankreatitis, Cushing-Syndrom (beinhaltet Mondgesicht, adrenokortikale Stammfettsucht, Diabetes mellitus, Natriumretention mit Ödemen, erhöhte Kaliumausscheidung, Nebenniereninaktivität oder –atrophie, Impotenz), Hypertonie, erhöhtes Thromboserisiko, Immunsuppression.

Es gibt Spontanberichte über die folgenden unerwünschten Nebenwirkungen, die im Zusammenhang mit einer Langzeittherapie oder in sehr seltenen Einzelfällen aufgetreten sind: Störungen des Stoffwechsels (Beinödeme, Cushing-Syndrom), zentralnervöse Nebenwirkungen, Erkrankungen der Muskeln und der Knochen (diffuse Myalgie oder Myasthenie, Osteoporose).

1.3. Metronidazol

Metronidazol ist der Hauptvertreter der antibiotisch wirkenden Nitroimidazole. Ursprünglich vor 30 Jahren zur Behandlung von Patienten mit *Trichomonas vaginalis* eingeführt, wird es seitdem außerdem erfolgreich bei der Behandlung von verschiedenen Anaerobiern und bei Infektionen des Magen-Darm-Trakts herangezogen (Lamp et al., 1999). Da zu Metronidazol die größte klinische Erfahrung vorliegt, ist es der am häufigsten verwendete Vertreter der Nitroimidazole.

Metronidazol wird ebenso bei der Behandlung des Morbus Crohn verwendet. Bei Befall des Colons ist seine Anwendung von größerem Nutzen als bei begrenzter Erkrankung des Ileums (Steinhart et al., 2002). Insbesondere Morbus-Crohn-assoziierte Komplikationen können von einer Therapie mit Antibiotika profitieren, dies betrifft unter anderem intraabdominale Abszesse, Entzündungen, perianale Erkrankungen (Fisteln und perirektale Abszesse), sekundäre bakterielle Überwucherung des Dünndarms nach partieller Obstruktion des Dünndarms und sekundäre Infektionen mit Organismen wie *Clostridium difficile*. Postoperativ kann mit Hilfe von Metronidazol ein erneutes Auftreten des Morbus Crohn verzögert werden. Metronidazol ist besonders effektiv zur Behandlung von perianalen Erkrankungen (Brunton et al., 2006).

Jedoch können hohe Dosen (750 mg dreimal täglich) für lange Zeit notwendig sein (Podolsky, 2002).

1.3.1. Pharmakokinetik

Resorption

Metronidazol wird nach oraler Verabreichung fast vollständig resorbiert, mit einer absoluten Bioverfügbarkeit von >90% für Tabletten. Orale Einzelgaben von 2 g an gesunde Freiwillige ergaben Durchschnittswerte von $c_{\max} = 40$ mg/l mit einer t_{\max} von 1-2 h (Lamp et al., 1999)

Verteilung

Metronidazol wird schnell und gut im Körper verteilt. Es hat eine geringe Proteinbindung (<20%). Das Verteilungsvolumen im Steady State bei Erwachsenen beträgt 0,5-1,1 l/kg Körpergewicht (Lamp et al., 1999). Metronidazol erreicht in der Darmmukosa 42-76% der Plasmakonzentration (Martin et al., 1991; Kling and Burman, 1989).

Metabolismus

Metronidazol wird umfangreich in der Leber durch Oxidation der Seitenketten und Glukuronidierung metabolisiert und in fünf Säure- und Hydroxymetaboliten umgewandelt. Jedoch wurde bis jetzt noch nicht untersucht, welche Enzyme bei diesem Metabolismus speziell beteiligt sind. Die Hydroxymetaboliten haben eine antibakterielle Aktivität von 30-65%, eine längere Halbwertszeit als die Muttersubstanz und können in Kombination mit Metronidazol synergistisch wirken. Dadurch wird die therapeutische Aktivität erhöht (Lamp et al., 1999).

Elimination

Der Hauptanteil von Metronidazol und seinen Metaboliten wird über den Urin ausgeschieden (circa 77% der Dosis), weniger als 12% wird unverändert ausgeschieden (Lamp et al., 1999). Circa 14% der Dosis wird fäkal ausgeschieden (Lamp et al., 1999). Die Eliminationshalbwertszeit von Metronidazol bewegt sich zwischen 6 und 10 Stunden, in den meisten

Studienberichten wird von Werten um die 8 Stunden berichtet (Lamp et al., 1999).

Die Pharmakokinetik von Metronidazol bleibt unbeeinflusst von Faktoren wie Alter oder Magenerkrankungen. Es gab keine Unterschiede in der Pharmakokinetik zwischen Patientengruppen mit Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn beziehungsweise gesunden Freiwilligen (Lamp et al., 1999).

Von toxischen Blutkonzentrationen wurde bei Werten von 200 mg/l berichtet.

1.3.2. Pharmakodynamik

Die bakterizide konzentrationsabhängige Wirkung von Metronidazol gegenüber sensiblen Anaerobiern scheint außerordentlich schnell einzutreten. Desweiteren zeigt Metronidazol einen post-antibiotischen Effekt, der länger als 3 Stunden anhält (Lamp et al., 1999). Außerdem haben Ergebnisse von In-vivo-Studien mit Morbus-Crohn-Patienten darauf hingewiesen, dass Metronidazol durch einen direkten Einfluss auf die Leukozyten ihre Migration steigert (Gnarpe et al., 1981).

1.3.3. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

Metronidazol ist ein Medikament mit einer hohen therapeutischen Breite. Es hat eine Nebenwirkungsinzidenz von unter 5% und wird in der Regel gut toleriert, wenn man es in Mengen von weniger als 2 g/Tag verabreicht. Seine Nebenwirkungen sind in der Regel gutartig. Leichte Magen-Darm-Beschwerden (wie zum Beispiel Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Appetitlosigkeit und Durchfall) zählen zu den häufigsten Beschwerden (Brunton et al., 2006). Bei oraler Einnahme wird öfter ein unangenehmer metallischer Geschmack beschrieben. Weitere häufiger auftretende Nebenwirkungen sind bitteres Aufstoßen, pelzige Zunge, Glossitis und Entzündung der Mundschleimhaut. Aufgrund der Metaboliten von Metronidazol kann der Urin dunkler erscheinen, dies ist jedoch ohne klinische Relevanz.

Gelegentliche Nebenwirkungen sind: Kopfschmerzen, Schwindel, Schläfrigkeit, Schlafstörungen, Verwirrung, Ruhelosigkeit, Depression, Koordinationsstörungen, Hautveränderungen (zum Beispiel Juckreiz, Urtikaria),

Fieber, Leukopenie, Granulozytopenie, anaphylaktische Reaktionen, Dysurie (vaginales und urethrales Brennen), Cystitis, Harninkontinenz, ungewöhnliche Leberfunktionstests (zum Beispiel Anstieg der Transaminasen oder von Bilirubin im Serum), genitale Candida-Superinfektion, Schwäche und Sehschwäche (zum Beispiel Diplopie und Myopie). Eine Neutropenie, die gewöhnlich nach einer Woche Therapie auftritt, wurde bei Patienten beobachtet, die Metronidazol über einen langen Zeitraum oder in einer hohen Dosierung erhalten haben. Die Häufigkeit liegt bei 2-4%. Alle berichteten Fälle waren reversibel (Lau et al., 1992). Eine mäßige Leukopenie wurde bei einigen Patienten beobachtet, jedoch ist die Zellzahl der weißen Blutkörperchen immer bereits vor oder nach Abschluss der Behandlung zu Normalwerten zurückgekehrt. Während intensiver und/oder lang anhaltender Therapie mit Metronidazol wurde in ein paar Fällen von peripherer Neuropathie (d. h. Dys-, Hyp- oder Parästhesie) oder von vorübergehenden epileptischen Anfällen berichtet. In den meisten Berichten ging die Neuropathie nach Beendigung der Behandlung zurück oder sobald die Dosis erniedrigt wurde.

Sehr selten wurde berichtet von anaphylaktischem Schock, Agranulozytose, Thrombozytopenie, Pankreatitis, cholestatischer Hepatitis und C.-difficile-Colitis, die meistens nach Absetzen des Medikaments wieder reversibel waren.

Die meisten Nebenwirkungen von Metronidazol traten nach lang anhaltender Therapie oder nach hohen Dosen auf. Ernsthaftige Nebenwirkungen traten bei bestimmungsgemäß durchgeführten Therapien selten auf.

Nach Beginn der Therapie kann Metronidazol die Reaktionsfähigkeit beeinträchtigen, was die Teilnahme am Straßenverkehr beeinflussen kann. Dies gilt besonders für gleichzeitigen Konsum von Alkohol. Vom Alkoholkonsum während der Behandlung mit Metronidazol sollte abgeraten werden, da ähnliche Symptome (Hautausschlag, Übelkeit, Kopfschmerzen, Schwindel) wie bei Disulfiram (Antabus®) auftreten können (Lau et al., 1992).

1.4. Pharmakokinetische Interaktionen

Die Interaktion von Medikamenten spiegelt ein ernsthaftes Problem im klinischen Alltag wider. Mit einem steigenden Verständnis für die Rolle von

Enzymen bei der Metabolisierung von Medikamenten und bei der Biotransformation bestimmter Substanzen wird die Möglichkeit, technische Ansätze zur Abschätzung von Medikamenteninteraktionen in vivo zu verwenden, größer. Das Cytochrom P450 (CYP) 3A ist der am häufigsten auftretende Subtyp der Cytochrome P450. Es trägt auch etwa bei der Hälfte der Medikamente, die heute im Gebrauch sind, und bei vielen endogenen Verbindungen zum Metabolismus bei (Guengerich, 1999; Thummel and Wilkinson, 1998). Es ist von besonderem Interesse, die Hemmung von CYP3A klinisch zu evaluieren, vor allem seit diese Art von Medikamenteninteraktion zu einer ernsthaften Gefährdung der Arzneimittelsicherheit führen kann (Monahan et al., 1990).

1.4.1. Interaktion Metronidazol → Budesonid

Budesonid ist ein Substrat von CYP3A und P-gp (Dilger et al., 2004; Jönsson et al., 1995).

In einer früheren pharmakokinetischen/pharmakodynamischen Studie (Dilger et al., 2006) wurde zum ersten Mal eine mögliche Interaktion zwischen Budesonid und Metronidazol vermutet. Ein Jugendlicher, der oral Metronidazol eingenommen hatte (1.200 mg pro Tag für 12 Tage) bis zum Abend vor der ersten Gabe von Budesonid, zeigte eine deutlich verzögerte Resorption von Budesonid. An diesem Tag (Tag 1), aber nicht an Tag 8 dieser Studie lag die Budesonidkonzentration im Plasma in den ersten 6 Stunden nach Einnahme unterhalb der Bestimmungsgrenze. Bedauerlicherweise war die Wiederholung der Studie an diesem Patienten nicht möglich, da bei ihm das Ileum eine kurze Zeit später reseziert wurde.

Es wurde vermutet, dass diese beachtliche Resorptionsverzögerung des magensaftresistenten Budesonid auf einer unerwarteten und bislang unbekanntem Arzneimittel-Interaktion zwischen Metronidazol und Budesonid beruhen könnte. Alternativ könnte die Resorption am ersten Studientag durch einen geänderten intraluminalen pH, durch eine verzögerte Magenentleerung oder eine verzögerte Darmpassage beeinträchtigt worden sein (Dilger et al., 2006).

Das Interaktionspotential von Metronidazol ist bislang nicht eindeutig geklärt. Bis heute wurden 6 Fälle publiziert, die einen möglichen Zusammenhang zwischen Metronidazol und erhöhten Plasmakonzentrationen verschiedener CYP3A-Substrate nahelegen (Amiodaron, Tacrolimus, Ciclosporin, Carbamazepin und Chinidin) (Roedler et al., 2007).

Desweiteren wurde angedeutet, dass Metronidazol ein Inhibitor oder ein Substrat des P-gp sein kann (Wang et al., 2000). Obwohl keine Daten hinsichtlich der Affinität von Metronidazol zu P-gp existieren, weist Metronidazol Charakteristika eines potentiellen P-gp-Substrats auf: Ausscheidung mit der Galle, Lipophilie und Elektroneutralität (Page et al., 2005). Interessanterweise sind die oben erwähnten Medikamente (Tacrolimus, Ciclosporin, Carbamazepin, Chinidin und Amiodaron) nicht nur Substrate von CYP3A4, sondern auch von P-gp (Shapiro and Shear, 2002; Page et al, 2005).

Ein Anstieg der Plasmakonzentration von Budesonid, der durch eine Arzneimittel-Interaktion verursacht wäre, könnte die entzündungshemmende Wirkung von Budesonid steigern. Auf der anderen Seite könnte ein Anstieg auch das Risiko für unerwünschte Arzneimittelwirkungen erhöhen.

1.4.2. Interaktion Budesonid → Metronidazol

In einer klinischen Studie mit 6 an Morbus Crohn erkrankten Patienten, welche gleichzeitig für sechs Tage mit Prednison (Substrat von CYP3A und P-gp) und Metronidazol behandelt wurden, wurde eine signifikante Erhöhung der Metronidazol-Clearance und der im Urin ausgeschiedenen Hydroxymetaboliten beobachtet. Die AUC von Metronidazol war ebenso vermindert (Eradiri et al., 1988).

Bis jetzt wurde noch nicht untersucht, ob Budesonid die Absorption von Metronidazol durch eine Interaktion mit P-gp erhöht. Außerdem ist nicht bekannt, ob Budesonid mit bestimmten Metronidazol-metabolisierenden Enzymen interagiert, da diese noch nicht identifiziert worden sind.

1.5. Zusammenfassung der Studie

Die Studie wurde nach einem offenen, prospektiven, nicht-randomisierten, einarmigen Interaktionsdesign durchgeführt. Da die eingesetzten Arzneimittel zugelassen sind, handelte es sich um eine Phase-IV-Studie. Es wurden 12 gesunde Freiwillige in die Studie eingeschlossen. Am Studientag 1 wurden 3 mg Budesonid als Einzeldosis verabreicht. An den Studientagen 2-8 erhielt jeder Studienteilnehmer 1,5 g Metronidazol pro Tag. Diese Dosis wurde aufgeteilt und jeweils die Hälfte am Morgen und am Abend eines Studientages verabreicht. Am 9. Studientag wurde zum letzten Mal Metronidazol (750 g) gleichzeitig mit Budesonid (3 mg) oral verabreicht.

Das pharmakokinetische Profil von Budesonid an den Studientagen 1 und 9 wurde durch die Plasmakonzentrationen von Budesonid und seinen beiden CYP3A-abhängigen Metaboliten (16 α -Hydroxyprednisolon und 6 β -Hydroxybudesonid) vor und innerhalb von 24 h nach Einnahme bestimmt. Die Konzentrationen wurden mittels LC/MS-MS (Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry) gemessen.

Das pharmakokinetische Profil von Metronidazol an den Studientagen 8 und 9 wurde durch Messung der Plasmakonzentrationen von Metronidazol bestimmt. Die Plasmakonzentrationen wurden mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography) gemessen.

An den Studientagen 1 und 9 wurde 12 Stunden lang nach Medikamentengabe Urin gesammelt, in dem die Ausscheidung von Cortisol und 6 β -Hydroxycortisol bestimmt wurde. Dies ist ein valides Verfahren zur Beurteilung einer Induktion oder Hemmung des CYP3A-assoziierten Arzneimittel-Metabolismus. Die Konzentrationen von Cortisol und 6 β -Hydroxycortisol wurden mittels LC/MS-MS (Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry) gemessen.

1.6. Studienziele

Budesonid wird zur Standardbehandlung bei Morbus Crohn eingesetzt. Metronidazol spielt eine zusätzliche Rolle bei der Behandlung von Morbus Crohn vor allem beim Vorliegen von Fisteln. Obwohl bei zahlreichen Patienten Metronidazol und Budesonid gleichzeitig verabreicht werden, wurde eine mögliche Arzneimittel-Interaktion bislang nicht systematisch untersucht.

Budesonid ist ein Substrat von Cytochrom P450 3A (CYP3A). Bisherige Fallberichte deuten darauf hin, dass Metronidazol mit erhöhten Plasmakonzentrationen anderer CYP3A-Substrate in Verbindung stehen könnte. Es ist jedoch bisher unklar, ob Metronidazol die Plasmakonzentration von Budesonid erhöhen kann. Aus Sicherheitsgründen sollte deswegen untersucht werden, ob Patienten mit Morbus Crohn unter einem erhöhten Risiko an Symptomen für das Cushing-Syndrom leiden, wenn Budesonid oral in Standarddosis verabreicht wird, während gleichzeitig Metronidazol gegeben wird. Dieses erhöhte Risiko könnte durch angestiegene Budesonidspiegel hervorgerufen werden, aufgrund einer Hemmung der Biotransformation von Budesonid mittels CYP3A.

Aus diesem Grund war das primäre Ziel der Studie, die Auswirkungen von Metronidazol auf das pharmakokinetische Profil von Budesonid und seiner CYP3A-abhängigen Metaboliten (16 α -Hydroxyprednisolon, 6 β -Hydroxybudesonid) zu untersuchen.

Die sekundären Ziele bestanden zum einen darin, einen möglichen Effekt von Budesonid auf das pharmakokinetische Profil von Metronidazol herauszufinden. Zum anderen sollte durch Urinbestimmungen untersucht werden, ob sich die Ratio von endogenem Cortisol und dessen Metabolit 6 β -Hydroxycortisol unter Metronidazol ändert. Dies würde auf eine Induktion bzw. Hemmung des CYP3A-Metabolismus hinweisen.

2. Material und Methoden

2.1. Studienprobanden

Die Rekrutierung von insgesamt 12 Probanden erfolgte über die Probandendatei der Abteilung Klinische Pharmakologie sowie durch direkte mündliche Ansprache und durch Aushänge zum Beispiel in der Mensa.

Innerhalb von 3 Wochen bis zum Beginn der Studie erfolgte eine Voruntersuchung der Studieninteressenten, bestehend aus Anamnese, körperlicher Untersuchung, Ruhe-EKG und klinisch-chemischer Laboruntersuchung (Blut und Urin; erhobene Parameter: siehe Tab. 2). Im Rahmen dieser Voruntersuchung wurden nur diejenigen Studieninteressenten in die Studie aufgenommen, bei denen die folgenden Einschlusskriterien gegeben waren und keines der genannten Ausschlusskriterien zutraf.

Einschlusskriterien:

- gesunde kaukasische Männer zwischen 18 und 55 Jahren
- Nichtraucher seit über einem halben Jahr
- BMI zwischen 18 – 30 kg/m²
- Körpergewicht zwischen 50 – 100 kg
- normales EKG
- klinisch akzeptabler Blutdruck und Puls in liegender Position
- unterschriebene Einverständniserklärung

Ausschlusskriterien (die angegebenen Normbereiche gelten für das Zentrallabor der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Tübingen):

- bekannte Allergien
- Personen mit Kontraindikationen für Budesonid: allergische Reaktionen auf Budesonid, lokale Infektionen des Darms, Leberzirrhose und Zeichen von portaler Hypertension

- Personen mit Kontraindikationen für Metronidazol: allergische Reaktionen auf Metronidazol, schwere Lebererkrankungen, Dyskrasie und zentrale oder periphere Nervensystemerkrankung.
 - Einnahme von Glukokortikosteroiden innerhalb der letzten sechs Wochen bis Studienbeginn
 - Operationen am Magen-Darm-Trakt, die die Medikamentenresorption beeinträchtigen können
 - positive(r) Befund(e) für HBsAg, HCV-/HIV-Ak
 - klinisch relevante Auffälligkeiten bei der körperlichen Untersuchung, Ruhe-EKG und beim übrigen klinisch-chemischen Labor
 - aktueller Raucher oder Nichtraucher seit <math>< \frac{1}{2}</math> Jahr
 - Vegetarier
 - positives Drogen-Screening
 - relevante Vorerkrankungen
 - regelmäßige Medikamenteneinnahme
 - Teilnahme an einer klinischen Studie in den letzten 2 Monaten vor dem geplanten Studienbeginn
 - Blutspende oder Blutverlust von mehr als 400 ml in den letzten zwei Monaten vor dem Studienbeginn
 - mangelnde Compliance.

Die demographischen Daten der in die Studie aufgenommenen Probanden sind in Tab. 1 wiedergegeben.

Tab. 1: Demographische Daten

Subj.-Nr.	Alter	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BMI [kg/m²]
1	28	64,9	166	23,6
2	34	79,5	171	27,2
3	33	63,5	177	20,3
4	29	75,6	173	25,3
5	37	95,3	191	26,1
6	38	70,4	182	21,3
7	27	78,6	186	22,7
8	26	73,5	178	23,2
9	34	82,7	182	25,0
10	34	78,9	195	20,7
11	20	77,5	179	24,2
12	23	58,3	177	18,6
MW:	31	178,5	76,6	23,4
SD:	5,6	8,2	9,8	2,6
Min:	20	166	58,3	18,6
Max:	38	195	95,3	27,2

2.2. Studienmedikation

Die Studienmedikation wurde von Dr. Falk Pharma GmbH zur Verfügung gestellt. Sie bestand aus Budenofalk® Kapseln, die 3 mg Budesonid enthalten und aus Clont® Filmtabletten, die 250 mg Metronidazol enthalten. Sie wurden in Übereinstimmung mit der GCP-V beschriftet. Alle Arzneimittel für die Studie wurden in einem abgeschlossenen Raum bei Zimmertemperatur (15-25°C) gelagert.

Budesonid

Es wurde registriert und zugelassen durch das "Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte" für die orale Behandlung Erwachsener bei aktivem

Morbus Crohn im Bereich des Ileums und/oder im ascendierenden Colon. Es musste einer regulären Charge entstammen. Die für die Studie ausgewählte Charge musste von adäquater Qualität und gemäß dem GMP-Standard hergestellt sein.

Am Morgen der Studientage 1 und 9 wurde den seit mindestens 10 Stunden nüchternen Probanden unter Aufsicht 1 x 1 Budenofalk® 3 mg Kapsel oral verabreicht (insgesamt: 6 mg). Jede Kapsel nahm der Proband zusammen mit 200 ml Wasser zu sich.

Metronidazol

Es wurde registriert und zugelassen durch das "Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte" für die orale Behandlung von Trichomonas vaginalis, Amöbiasis, Lambliasis und bei Infektionen durch Anaerobier und zur oralen Prophylaxe von Infektionen bei gynäkologischen oder gastroenterologischen Eingriffen. Es musste einer regulären Charge entstammen. Die für die Studie ausgewählte Charge musste von adäquater Qualität und gemäß dem GMP-Standard hergestellt sein.

An den Studientagen 2-8 wurde den Probanden 1 x 3 Clont® Filmtabletten (750 mg) morgens und 1 x 3 Clont® Filmtabletten (750 mg) abends nach der Mahlzeit oral verabreicht. Am 9. Tag erhielten die Proband gleichzeitig mit Budesonid morgens 1 x 3 Clont® Filmtabletten (750 mg).

2.2.1. Verabreichung der Studienmedikation

Die an eine Person verabreichte Gesamtmenge an Budesonid betrug 6 mg und die Gesamtmenge an Metronidazol 11.250 mg. Dadurch wurde erwartet, dass der Blutspiegel hoch genug für analytische Bestimmungen und Berechnungen von pharmakokinetischen Parametern war. Die Dosierungen wurden entsprechend der gewünschten therapeutischen Tagesdosierung gewählt und wurden anhand von früheren Studien und der empfohlenen Dosierungen festgelegt.

Beim zeitlichen Zusammentreffen der Medikamentengabe von Metronidazol und Budesonid, wie zum Beispiel am Morgen von Studientag 9 betrug die Trinkmenge nicht 400 ml sondern nur 200 ml. Beide Medikamente sollten

innerhalb einer Minute eingenommen werden. Die Reihenfolge, welches Medikament innerhalb dieser Minute als erstes eingenommen wurde, war nicht relevant.

Zwei Einzeldosen von 3 mg Budesonid innerhalb eines Zeitintervalls von 8 Tagen stellen kein übermäßiges Risiko bezüglich glukokortikoidtypischer Nebenwirkungen dar. Metronidazol wurde bei der empfohlenen Dosis und der empfohlenen Anwendungsdauer (2 x 750 mg/Tag für 8 Tage) gut toleriert. Falls irgendeine Induktion von intestinaler oder hepatischer Arzneimittel-Metabolisierung stattgefunden hätte, erschien eine Studiendauer von circa einer Woche notwendig zu sein, um klinisch relevante Veränderungen festzustellen.

2.2.2. Begleitmedikation

Die Gabe von anderen Medikamenten während des Studienverlaufs, d. h. von Beginn des ersten Screeningtags bis zur abgeschlossenen Nachuntersuchung, war nicht erlaubt. Eine Ausnahme für diese Regel galt für Medikamente, welche erforderlich gewesen wären, um Nebenwirkungen zu behandeln, und für Paracetamol (max. 1.000 mg/d), das während der Studie als Begleitmedikation erlaubt war, aber von keinem Probanden eingenommen wurde. Jede Begleitmedikation musste mit Präparat, Wirkstoff, Darreichungsform und Anwendungsdauer dokumentiert werden.

Die Behandlung mit folgenden Medikamenten (CYP3A-Induktoren oder –Inhibitoren: Barbiturate, Cimetidin, Phenytoin, Rifampicin, Amiodaron, Clarithromycin, Erythromycin, Fluoxetin, Fluvoxamin, Ciprofloxacin, Norfloxacin, Fluconazol, Itraconazol, Ketoconazol, Nefazodon, Ethinylestradiol, Ciclosporin, Carbamazepin, Corticosteroide, Rifabutin, Johanniskraut, Diltiazem, Verapamil, Pioglitazon, Modafinil) war während der Studie und vier Wochen vor Studienbeginn nicht erlaubt.

Außerdem war jegliche Einnahme von frei verkäuflichen Arzneimitteln während der Studie und 14 Tage vor Studienbeginn nicht erlaubt.

2.3. Studiendesign und Studienablauf

Die Studie wurde nach einem offenen, prospektiven, nicht-randomisierten, einarmigen Interaktionsdesign durchgeführt. Da die eingesetzten Arzneimittel zugelassen sind, handelte es sich um eine Phase-IV-Studie.

Sie wurde auf der Probandenstation der Abteilung Klinische Pharmakologie durchgeführt.

2.3.1. Mahlzeiten und Einschränkungen

Die Studie bestand aus drei stationären Tagen 1, 8 und 9 und aus sechs ambulanten Tagen 2-7. Alles in allem fanden 5 Übernachtungen statt (Studientag -1 → 1, 1 → 2, 7 → 8, 8 → 9, 9 → 10). Die Probanden wurden ab ca. 17 Uhr am Vorabend der Studientage 1 und 8, an denen die entsprechende Medikamentengabe stattfand, in die Studienräume der Klinischen Pharmakologie stationär aufgenommen. Um 18 Uhr an den entsprechenden Abenden, d. h. an den Studientagen -1 und 7 erhielten sie ein leichtes, kaltes Abendessen.

Während der stationären Tage (Studientage 1, 8 und 9) wurde die jeweilige Studienmedikation den seit mindestens 10 Stunden nüchternen Probanden verabreicht. Es gab kein Frühstück. Nach 2, 4, 6 und 8 Stunden wurden die Probanden aufgefordert 300 ml stilles Mineralwasser mit Raumtemperatur zu trinken. Eine Zeitabweichung von ± 15 min war erlaubt. Mit Ausnahme der ersten 8 Stunden nach Arzneimitteleinnahme (in denen die Wasseraufnahme streng standardisiert war) konnten die Probanden innerhalb von 24 h insgesamt maximal eine Trinkmenge von 2,5 l zu sich nehmen, wahlweise Früchtetee (ausschließlich Fenchel, Kamille oder Malve) oder Wasser mit Raumtemperatur. 4 Stunden nach Arzneimitteleinnahme gab es ein warmes Mittagessen, 8 und 14 Stunden danach eine kleine Zwischenmahlzeit und 11 Stunden danach ein leichtes, kaltes Abendessen zum vollständigen Verzehr. Am Morgen der Studientage 2 und 10 gab es ein leichtes, kaltes Frühstück.

Die Zusammensetzung der Mahlzeiten und der Flüssigkeit musste für alle Teilnehmer identisch sein. Während der gesamten Studiendauer (von

Screening bis Nachuntersuchung) sollten sie ihre normalen Essgewohnheiten beibehalten.

Um unerwünschte Einflüsse auf die Zielsetzung der Studie zu vermeiden, sollten während der gesamten Studie starke körperliche Anstrengungen vermieden werden. Es sollten keine Grapefruits, Grapefruitsaft oder Nahrung, die Mohn oder Johanniskraut enthält, 7 Tage vor Studientag 1 verzehrt werden. Xanthin-haltige Getränke oder Nahrung wie zum Beispiel Kaffee, Tee, Cola, Kakao oder Schokolade war während der Studie und 2 Tage vor Studientag 1 nicht erlaubt, ebenso alkoholische Getränke. Während den ersten beiden Stunden nach Arzneimitteleinnahme an den Studientagen 1, 8 und 9 war die Aufnahme von Nahrung oder Getränken nicht erlaubt. Kalorienfreier künstlicher Süßstoff durfte nicht zum Tee hinzugegeben werden. Die Probanden sollten in den ersten 4 Stunden nach Arzneimitteleinnahme an den Studientagen 1, 8 und 9 im Bett bleiben. Kaugummis waren nicht erlaubt.

2.3.2. Abnahme, Lagerung und Verarbeitung der Blutproben

Die Blutentnahme wurde über eine Venenverweilkanüle am Unterarm oder über direkte Venenpunktion an den Studientagen 1, 8 und 9 durchgeführt. Ungefähr 265 ml Blut wurde während der gesamten Studie von einem Probanden gesammelt.

Budesonid

Die Blutabnahme zur Bestimmung der Pharmakokinetik von Budesonid und seiner Phase-I-Metaboliten (16 α -Hydroxyprednisolon, 6 β -Hydroxybudesonid) an den Studientagen 1 und 9 wurde 30 min vor der Budesonid-Einnahme und 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 8, 10, 12, 24 und 24,5 h nach der Einnahme von Budesonid durchgeführt. Die tolerierte Zeitabweichung von der Blutabnahme zur Einnahme der Studienmedikation betrug \pm 3 min.

Es wurden zu jedem Zeitpunkt von jedem Probanden 4 ml Blut in ein EDTA-Röhrchen (Monovette[®] Sarstedt) abgenommen. Es wurde leicht geschwenkt und anschließend zentrifugiert bei 1500 U/min, 10 min, 4°C. Bei verzögertem Beginn der Zentrifugation wurden die Blutröhrchen bei 4°C bis zur

Zentrifugation aufbewahrt (höchstens 30 min lang). Nach der Zentrifugation wurde das überstehende Plasma (ca. 2 ml) unmittelbar in ein neues Polypropylen-Röhrchen pipettiert und sofort bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren. Die Röhrchen blieben maximal für 3 Monate bis zur bioanalytischen Auswertung bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren.

Metronidazol

Die Blutabnahme zur Bestimmung der Pharmakokinetik von Metronidazol an den Studientagen 8 und 9 wurde 30 min vor der Metronidazol-Einnahme und 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 und 24,5 h danach durchgeführt. Die tolerierte Zeitabweichung von der Blutabnahme zur Einnahme der Studienmedikation betrug ± 3 min. Zur Überprüfung des Steady-State von Metronidazol fand am Morgen der Studientage 6 und 7 vor der Gabe von Metronidazol eine Blutentnahme statt, um den Talspiegel zu bestimmen. Die tolerierte Zeitabweichung für diese Blutabnahme betrug ± 30 min.

Es wurden zu jedem Zeitpunkt von jedem Probanden 4 ml Blut in ein Lithium-heparinisierendes Polypropylenröhrchen (Monovette® Sarstedt) abgenommen. Es wurde leicht geschwenkt, für 20-60 min in einem Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt, um die Koagulation zu gewährleisten, und anschließend zentrifugiert bei 1500 U/min, 10 min, 4°C . Nach der Zentrifugation wurde das überstehende Plasma (ca. 2 ml) unmittelbar in ein neues Polypropylen-Röhrchen pipettiert und sofort bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren. Die Röhrchen blieben maximal für 3 Monate bis zur bioanalytischen Auswertung bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren.

2.3.3. Sicherheitslabor

Tab. 2: Gemessene Parameter bei der klinisch-chemischen Laboruntersuchung (im Rahmen der Vor- und Nachuntersuchung)

Blutbild	Klinische Chemie	Urinuntersuchung	Sonstiges
Leukozyten	Natrium	Leukozyten	HBV-Serologie
Erythrozyten	Kalium	pH-Wert	HCV-Serologie
Hämatokrit	Kreatinin	Gesamteiweiß	HIV-Serologie
Hämoglobin	Gesamteiweiß	Glukose	
MCV	Harnstoff	Ketonkörper	
MCH	Albumin	Urobilinogen	
Thrombozyten	GOT	Bilirubin	
Neutrophile	GPT	Hämoglobin	
Lymphozyten			
Basophile	γ GT	Aceton	
Lymphozyten			
Eosinophile	Bilirubin gesamt	Drogen-Screening	
Lymphozyten			
Monozyten	INR		
Erythrozyten-	PTT		
Sedimentations-			
Rate (BSG)	Nüchternblutzucker		

Tab. 3: Gemessene Parameter bei der klinisch-chemischen Laboruntersuchung (2-4 Tage nach Beginn der Metronidazoleinnahme an Studientag 2)

Blutbild	Klinische Chemie
Leukozyten	GOT
Erythrozyten	Bilirubin gesamt
Hämatokrit	

Hämoglobin	
MCV	
MCH	
Thrombozyten	

2.3.4. Urinsammlung zur Bestimmung der Ausscheidung von freiem Cortisol und 6 β -Hydroxycortisol

An den Studientagen 1 und 9 wurde 12 Stunden lang nach Medikamentengabe Urin gesammelt, in dem die Ausscheidung von Cortisol und 6 β -Hydroxycortisol bestimmt wurde. Dies ist ein valides Verfahren zur Beurteilung einer Induktion oder Hemmung des CYP3A-assoziierten Arzneimittel-Metabolismus (Galteau und Shamsa, 2003). Jeder Proband sollte innerhalb von 30 min vor der Medikamenteneinnahme und am Ende der Sammelperiode seine Blase entleeren. Während der Sammelperiode wurden die Urinportionen in einem Polypropylenbehälter gesammelt und bei 4-8°C in einem Kühlschrank aufbewahrt. Nach der abgeschlossenen Sammelperiode wurden die Urinbehälter der einzelnen Probanden durchgemischt und das Gesamtvolumen des Urins jedes Behälters bestimmt (1 g $\hat{=}$ 1 ml). Für die bevorstehende Analyse des freien Cortisol und 6 β -Hydroxycortisol wurden 10 ml der gesamten Urinportion jedes Probanden bei \leq -20°C tiefgefroren.

2.4. Analytische Methoden

Die Plasmakonzentrationen von Budesonid und seinen beiden CYP3A-abhängigen Metaboliten (16 α -Hydroxyprednisolon und 6 β -Hydroxybudesonid) wurden mittels LC/MS-MS (Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry) gemessen. Die untere Nachweisgrenze zur Quantifizierung von Budesonid und 6 β -Hydroxybudesonid lag bei 0,1 ng/ml und für 16 α -

Hydroxyprednisolon bei 0,5 ng/ml. Zwischen den Tagen und innerhalb der Tage war der Variationskoeffizient der Qualitätssicherung kleiner als 15%.

Die Konzentrationen von Cortisol und 6 β -Hydroxycortisol im Urin wurden mittels validierter LC/MS-MS gemessen. Die untere Nachweisgrenze zur Quantifizierung lag bei 0,1 ng/ml. Zwischen den Tagen und innerhalb der Tage war der Variationskoeffizient der Qualitätssicherung kleiner als 10%.

Die Plasmakonzentrationen von Metronidazol wurden mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography) gemessen. Die untere Nachweisgrenze zur Quantifizierung lag bei 0,03 μ g/ml. Zwischen den Tagen und innerhalb der Tage war der Variationskoeffizient der Qualitätssicherung kleiner als 7%.

LC/MS-MS

LC/MS-MS ist eine Kopplung von zwei verschiedenen Techniken: Eine analytische HPLC wird mit einem Massenspektrometer (MS) gekoppelt. Die Tandem-Massenspektrometrie gibt im Vergleich zur einfachen Massenspektrometrie die Möglichkeit einer hochselektiven und sensitiven Detektion von Verbindungen (Wang et al., 2003).

HPLC

HPLC steht für High Performance Liquid Chromatography (in den Anfangszeiten dieser Technik auch für "High Pressure Liquid Chromatography"). Es handelt sich um ein chromatographisches Trennverfahren. Die zu untersuchende Substanz wird zusammen mit einem flüssigen Laufmittel, der "mobilen Phase" (auch Eluent genannt) auf eine sog. Trennsäule, die die "stationäre Phase" darstellt, gegeben. Ein Bestandteil der zu untersuchenden Substanz verbleibt relativ lange in der Säule, wenn eine starke Wechselwirkung zwischen dem Bestandteil und der stationären Phase besteht. Er verlässt hingegen die Säule früher, wenn eine starke Wechselwirkung mit der mobilen Phase besteht. Je nach Stärke dieser Wechselwirkungen erscheinen die Bestandteile der Substanz zu verschiedenen Zeiten (den "Retentionszeiten") am Ende der Trennsäule, wo sie dann mit

einem geeigneten Detektor (für Metronidazol: UV-Detektor) nachgewiesen werden können.

2.5. Pharmakokinetische und pharmakodynamische Auswertungen

Standardisierte, modellunabhängige Methoden wurden benutzt, um die pharmakokinetischen Parameter, die von Interesse waren, zu bestimmen (Version 4.0 von Kinetica, Thermo Electron Corporation, Philadelphia, USA). Die maximale Konzentration (C_{max}) und die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Konzentration (t_{max}) wurden direkt aus der Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve bestimmt. Die AUCs, die unterschiedliche Intervalle abdecken (z. B. $AUC_{(0-24\text{ h})}$), wurden durch eine Kombination aus linearer und logarithmischer Trapezregel mit Extrapolation ins Unendliche ($AUC_{(0-\infty)}$) bestimmt. Die Halbwertszeit ($t_{1/2}$) wurde aus dem letzten Anstieg der log-linearen Konzentrations-Zeit-Kurve durch *least-squares linear regression* ermittelt. Die apparente orale Clearance ($CL/f = \text{Dosis} / AUC_{(0-\infty)}$) und das apparente Verteilungsvolumen ($V_d/f = \text{dose} / [AUC_{(0-\infty)} * \lambda]$) wurden auf das Körpergewicht normiert. Die Peak trough fluctuation (PTF) der Plasmakonzentration von Metronidazol im Steady-State wurde aus dem Gleichgewicht von $PTF = 100 * (C_{ss,max} - C_{ss,min}) / C_{ss,av}$ mit $C_{ss,av} = AUC_{ss,0-12\text{ h}}$ abgeleitet. Die Ratios der gebildeten Metaboliten ($AUC_{Met} / AUC_{Budesonid}$, wobei Met der CYP3A-abhängige Metabolit ist), wie zum Beispiel die $AUC_{(0-24\text{ h})}$ von 6 β -Hydroxybudesonid zu der $AUC_{(0-24\text{ h})}$ von Budesonid, diente als Hinweis auf die CYP3A-Aktivität. Außerdem wurde die mögliche Induktion oder Hemmung des CYP3A-Enzyms durch Messungen der kumulativen Menge von Cortisol und 6 β -Hydroxycortisol im 12-Stunden-Sammelurin evaluiert ($Ae_{(0-12\text{ h})}$). Die metabolischen Ratios ($Ae_{6\beta\text{-OH-Cortisol}} / Ae_{Cortisol}$) wurden von jedem Probanden berechnet.

2.6. Statistische Auswertung

Die primäre Zielgröße der Studie bestand im Ausmaß der Bioverfügbarkeit von Budesonid und seinen Phase-I-Metaboliten im Vergleich von Studientag 9 zu Studientag 1, wiedergegeben durch die AUC. Die Studie deckt mit 94%iger

Sicherheit einen Unterschied von 20% in der Plasma-AUC von Budesonid zwischen Studientag 1 und 9 mit einem p-Wert kleiner als 0,05 auf. Die Berechnung der Stichprobengröße beruhte auf dem Variationskoeffizient der AUC von Budesonid in einer früheren Studie (Hempfling et al., 2003). Statistische Analysen wurden mit Hilfe des Softwarepakets GraphPad InStat (Version 3.05, GraphPad Software Inc., San Diego, CA) durchgeführt. Der Wilcoxon-Rangsummentest wurde zum Vergleich pharmakokinetischer/dynamischer Parameter zwischen zwei unterschiedlichen Studientagen (z. B. Tag 1 im Vergleich zu Tag 9) ausgeführt. Ein p-Wert < 0,05 für den zweiseitigen Test wurde als statistisch signifikant betrachtet. Außerdem wurden 90%-Konfidenzintervalle der logarithmisch-transformierten Werte von $AUC_{(0-24\text{ h})}$ ($AUC_{ss,0-12h}$) und von C_{max} ($C_{ss,max}$) von Budesonid (Metronidazol) vor und während der Verabreichung von Metronidazol (Budesonid) durch die Restabweichung der multifaktoriellen Varianzanalyse abgeleitet. Entsprechend den Richtlinien der U.S. Food and Drug Administration und der European Medicines Agency sind die Ratio of Means mit den Konfidenzintervallen (CI) der AUC und der C_{max} die Kenngrößen zur Bestimmung der Bioäquivalenz für oral verabreichte Medikamente.

2.7. Rechtliche Grundlagen

Außer der Deklaration von Helsinki werden folgende Gesetze und Verordnungen auf die klinische Prüfung angewandt:

- Good Clinical Practice consolidated Guidelines der International Conference on Harmonisation (ICH-GCP).
- Grundsätze für die ordnungsgemäße Durchführung der klinischen Prüfung von Arzneimitteln vom Bundesminister für Jugend, Familie, Frauen und Gesundheit (Version vom 9. Dezember 1987)
- Registrierung der Studie in der public trials registry der United States National Library of Medicine (www.clinicaltrials.gov, NCT00338910).

Es handelt sich um eine wissenschaftliche Studie. Das Arzneimittelgesetz § 40 findet uneingeschränkte Anwendung. Die Auflagen laut § 40 unter Berücksichtigung von § 42 werden erfüllt.

Es liegt eine zustimmende Bewertung der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Tübingen vor, sowie eine Genehmigung des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM, Bonn). Die Anforderungen des Datenschutzes waren in vollem Umfang gewährleistet.

3. Ergebnisse

3.1. Zusammensetzung der Studienteilnehmer

Die Studie wurde für Forschungszwecke durchgeführt. Es nahmen insgesamt 12 gesunde männliche Probanden (Alter: $30,3 \pm 5,6$ Jahre, Körpergewicht: $74,9 \pm 9,8$ kg, BMI: $23,2 \pm 2,6$ kg/m²; arithmetisches Mittel \pm SD) teil.

3.2. Pharmakokinetische Daten von Budesonid

3.2.1. Konzentrationen und pharmakokinetische Parameter

Die pharmakokinetischen Parameter von Budesonid an Studientag 1 (ohne Metronidazol) und Studientag 9 (mit Metronidazol) sind in Tab. 4 wiedergegeben. Der Wilcoxon-Rangsummentest ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den aufgeführten Parametern zwischen Studientag 1 und 9 (z. B. $AUC_{(0-\infty)}$ von Budesonid: $4,88 \pm 2,04$ h*ng/ml vs. $4,77 \pm 2,11$ h*ng/ml).

Tab. 4: Pharmakokinetische Parameter von Budesonid an Studientag 1 (ohne Metronidazol) und an Studientag 9 (mit Metronidazol). Mittelwerte \pm Standardabweichung, t_{max} , t_{lag} , $t_{1/2}$ sind als Median (Range) wiedergegeben.

	<i>Ohne Metronidazol (Tag 1)</i>	<i>Mit Metronidazol (Tag 9)</i>
<i>Budesonid</i>		
C_{max} (ng/ml)	$1,00 \pm 0,35$	$1,04 \pm 0,40$
t_{max} (h)	4,5 (4,1-6,2)	4,5 (3,9-4,8)
t_{lag} (h)	3,0 (2,8-3,8)	2,8 (2,0-3,4)
$AUC_{0-\infty}$ (h*ng/ml)	$4,88 \pm 2,04$	$4,77 \pm 2,11$
$t_{1/2}$ (h)	2,6 (2,1-5,1)	3,6 (2,6-6,0)

CL/f (l/min/kg)	0,17 ± 0,08	0,18 ± 0,09
V _d /f (l/kg)	43,8 ± 15,2	60,6 ± 38,1

Das durchschnittliche und individuelle Plasma-Konzentrations-Zeit-Profil von Budesonid nach der oralen Einmalgabe von Budesonid an Studientag 1 (ohne Metronidazol) und an Studientag 9 (mit Metronidazol im Steady-State) ist in Abb. 1 und 2 dargestellt.

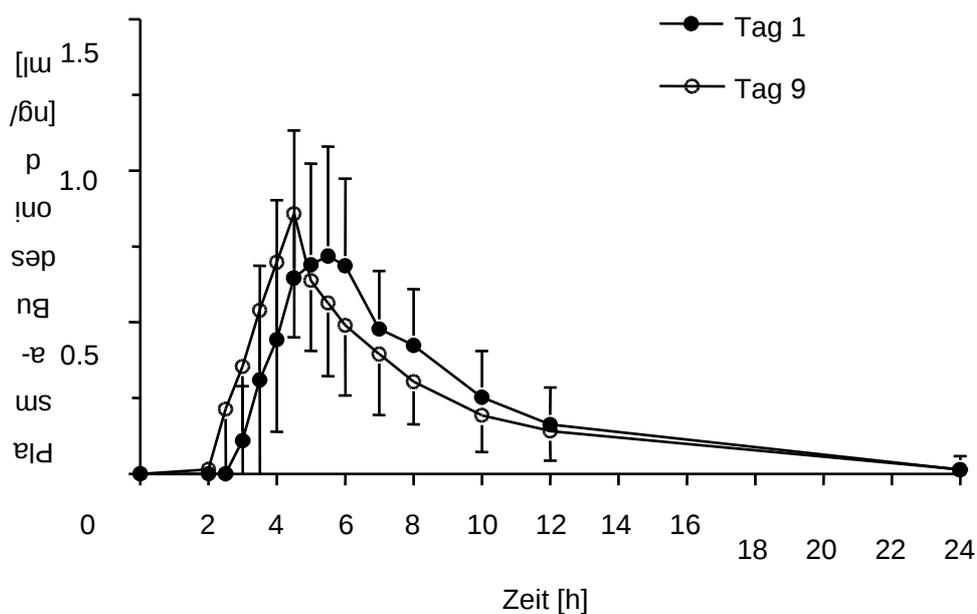


Abb. 1: Zeitlicher Verlauf der Budesonid-Plasmakonzentrationen mit (Tag 9) und ohne (Tag 1) Metronidazol (Mittelwerte und Standardabweichungen; n=12).

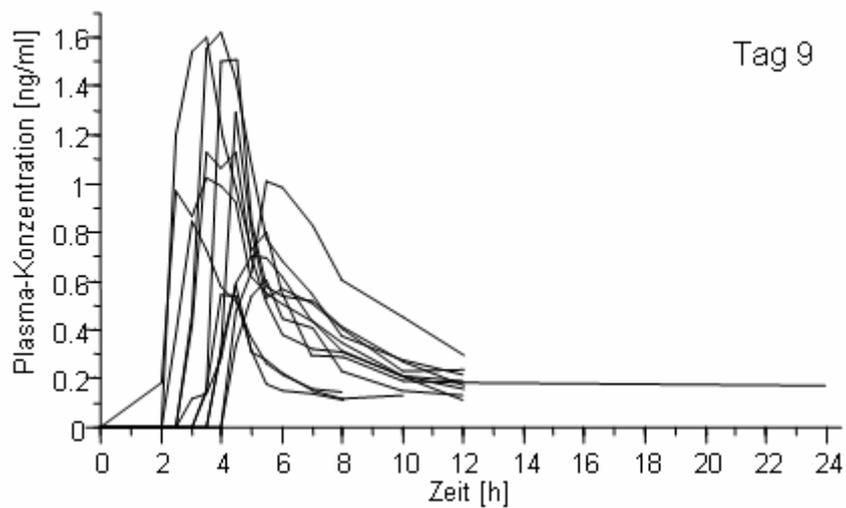
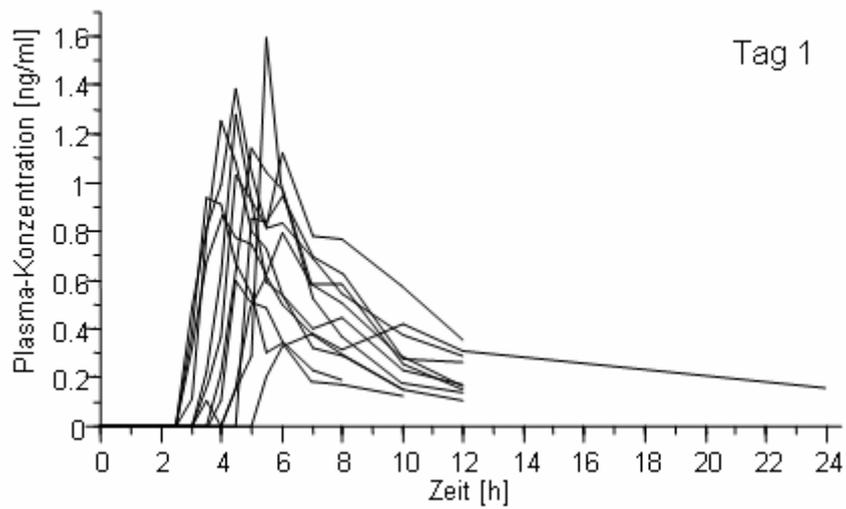


Abb. 2: Überlagerungen der individuellen Konzentrations-Zeit-Kurven von Budesonid nach der Einmalgabe von 3 mg Budesonid an Studientag 1 (oben: ohne Metronidazol) und Studientag 9 (unten: mit Metronidazol im Steady-State nach 2 x 750 mg von Tag 2 bis Tag 8 und 1 x 750 mg an Tag 9).

3.2.2. Vergleich von Budesonid zwischen Studientag 1 und 9

Um die Bioäquivalenz der Pharmakokinetik von Budesonid zwischen Tag 1 und Tag 9 abzuschätzen, wurden die 90%-Konfidenzintervalle für die Ratios von $AUC_{(0-t_{last})}$, $AUC_{(0-\infty)}$, $AUC_{(0-24\text{ h})}$, C_{max} , CL/f , V_z/f und $t_{1/2}$ berechnet (Tab. 5).

Tab. 5: Parametrische Punktschätzungen und 90%-Konfidenzintervalle für die Ratio "Tag 9/Tag 1" für Budesonid (n=12).

		Ratio (Tag 9 / Tag 1)	90%-CI	
			Untere Grenze	Obere Grenze
Budesonid	$AUC_{0-t_{last}}$ [h x ng/ml]	0,93	0,74	1,16
Budesonid	$AUC_{0-\infty}$ [h x ng/ml]	0,96	0,76	1,20
Budesonid	C_{max} [ng/ml]	1,03	0,76	1,39

Die Punktschätzung der AUC- und C_{max} -Ratios von Budesonid während der Verabreichung von Metronidazol (Studientag 9) relativ zum Studientag 1 (ohne Metronidazol) lag in der Nähe von 1,00 ($AUC_{(0-t_{last})}$: 0,93, $AUC_{(0-\infty)}$: 0,96, C_{max} : 1,03), was auf die Vergleichbarkeit der Pharmakokinetik von Budesonid an den Tagen 9 und 1 hindeutet. Das 90%-Konfidenzintervall der AUC-Ratios lag geringfügig außerhalb des vorbestimmten Äquivalenzbereichs von 0,80-1,25 ($AUC_{(0-t_{last})}$: 0,74-1,16, $AUC_{(0-\infty)}$: 0,76-1,20). Das 90%-Konfidenzintervall der C_{max} -Ratio lag ebenfalls außerhalb von 0,80-1,25 bei 0,76-1,39. Es wurde außerdem kein relevanter Unterschied für t_{max} von Budesonid zwischen Tag 1 und Tag 9 ermittelt.

3.3. Pharmakokinetische Daten der Phase-I-Metaboliten

3.3.1. Konzentrationen und pharmakokinetische Parameter von 6 β -Hydroxybudesonid

Die Pharmakokinetik von 6 β -Hydroxybudesonid an den Studientagen 1 und 9 verhielt sich ähnlich wie die von Budesonid (Tab. 6). Der Wilcoxon-Rangsummentest ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den aufgeführten Parametern. Durch die pharmakokinetischen Ergebnisse von 6 β -Hydroxybudesonid wurde das Fehlen einer pharmakokinetischen Interaktion zwischen Budesonid und Metronidazol bestätigt.

Tab. 6: Pharmakokinetische Parameter von 6 β -OH-Budesonid.

	<i>Ohne Metronidazol</i> <i>(Tag 1)</i>	<i>Mit Metronidazol</i> <i>(Tag 9)</i>
<i>6β-OH-Budesonid</i>		
C_{\max} (ng/ml)	1,36 \pm 0,6	1,36 \pm 0,45
t_{\max} (h)	4,8 (4,1-6,9)	4,5 (4,0-5,0)
t_{lag} (h)	3,0 (2,1-3,8)	2,8 (2,0-3,3)
$AUC_{0-\infty}$ (h*ng/mL)	9,11 \pm 3,64	8,52 \pm 2,64
$t_{1/2}$ (h)	4,8 (3,5-6,0)	3,8 (3,4-7,5)

Das durchschnittliche und individuelle Plasma-Konzentrations-Zeit-Profil von 6 β -Hydroxybudesonid nach der oralen Einmalgabe von Budesonid an Studientag 1 (ohne Metronidazol) und an Studientag 9 (mit Metronidazol im Steady-State) ist in Abb. 3 und 4 dargestellt.

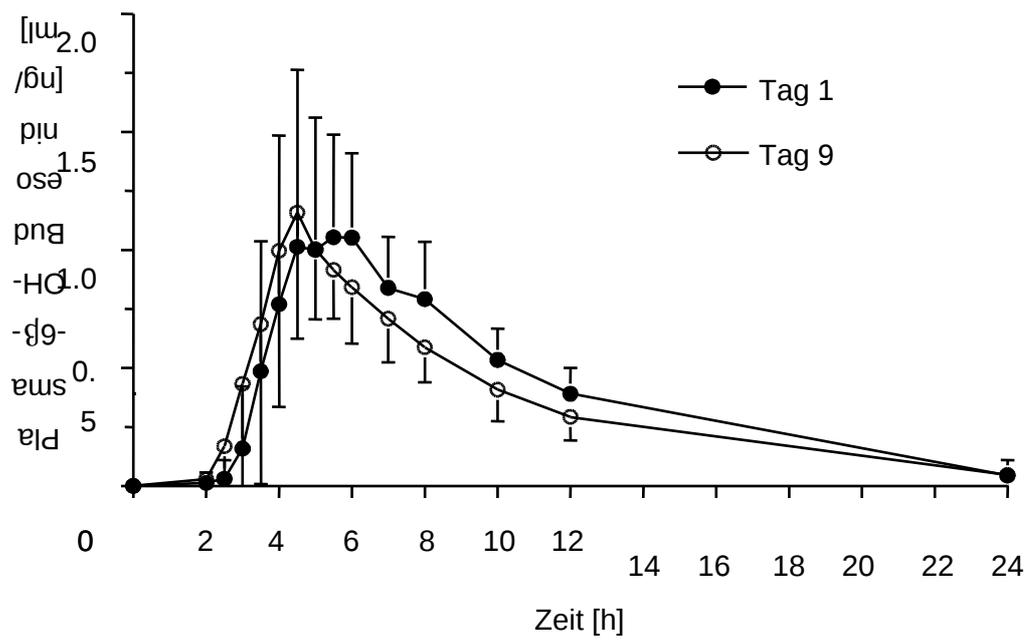


Abb. 3: Zeitlicher Verlauf der 6 β -Hydroxybudesonid-Plasmakonzentrationen mit (Tag 9) und ohne (Tag 1) Metronidazol (Mittelwerte und Standardabweichungen; n=12).

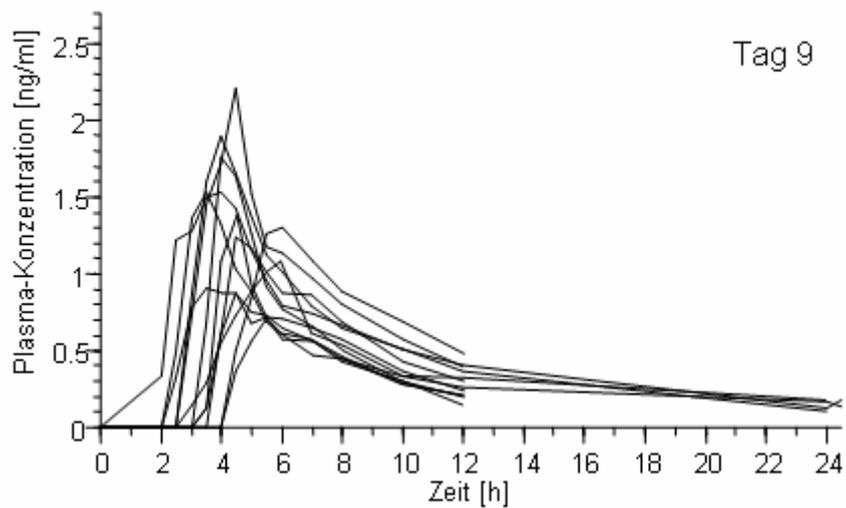
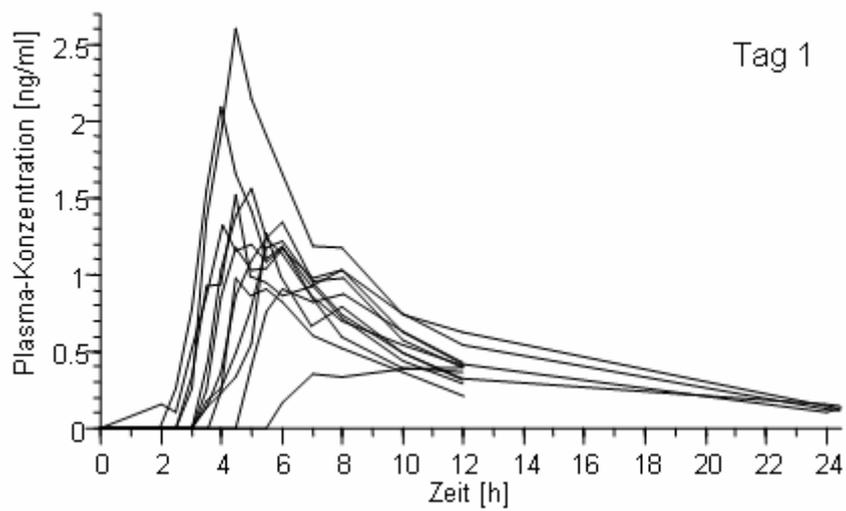


Abb. 4: Überlagerungen der individuellen Konzentrations-Zeit-Kurven von 6 β -Hydroxybudesonid nach der Einmalgabe von 3 mg Budesonid an Studientag 1 (oben: ohne Metronidazol) und Studientag 9 (unten: mit Metronidazol im Steady-State nach 2 x 750 mg von Tag 2 bis Tag 8 und 1 x 750 mg an Tag 9).

3.3.2. Vergleich von 6β-Hydroxybudesonid zwischen Studientag 1 und 9

Um die Bioäquivalenz der Pharmakokinetik von 6β-Hydroxybudesonid zwischen Tag 1 und Tag 9 abzuschätzen, wurden die 90%-Konfidenzintervalle für die Ratios von $AUC_{(0-t_{last})}$, $AUC_{(0-\infty)}$, $AUC_{(0-24h)}$, C_{max} und $t_{1/2}$ berechnet (Tab. 7). Der untere Bereich des 90%-Konfidenzintervalls der AUC-Ratios unterschritt geringfügig den vorbestimmten Äquivalenzbereich von 0,80-1,25 ($AUC_{(0-t_{last})}$: 0,76-1,23, $AUC_{(0-\infty)}$: 0,78-1,25), was jedoch als klinisch irrelevant eingeschätzt wurde. Es wurde außerdem kein relevanter Unterschied für t_{max} von 6β-Hydroxybudesonid zwischen Tag 1 und Tag 9 ermittelt. Die metabolischen Ratios $MR_{(0-\infty)}$ (berechnet aus $AUC_{(0-\infty)}$ (6β-Hydroxybudesonid) / $AUC_{(0-\infty)}$ (Budesonid)) und $MR_{(0-24h)}$ (berechnet aus $AUC_{(0-24h)}$ (6β-Hydroxybudesonid) / $AUC_{(0-24h)}$ (Budesonid)) unterschieden sich nicht zwischen Tag 1 und Tag 9.

Tab. 7: Parametrische Punktschätzungen und 90%-Konfidenzintervalle für die Ratio "Tag 9/Tag 1" für 6β-Hydroxybudesonid (n=12).

		Ratio (Tag 9 / Tag 1)	90%-CI	
			Untere Grenze	Obere Grenze
6-OH-Budesonid	$AUC_{0-t_{last}}$ [h x ng/ml]	0,97	0,76	1,23
6-OH-Budesonid	$AUC_{0-\infty}$ [h x ng/ml]	0,99	0,78	1,25
6-OH-Budesonid	C_{max} [ng/ml]	1,04	0,82	1,32

3.3.3. Konzentrationen und pharmakokinetische Parameter von 16α-Hydroxyprednisolon

Die Pharmakokinetik von 16 α -Hydroxyprednisolon an den Studientagen 1 und 9 verhielt sich ähnlich wie die von Budesonid (Tab. 8). Der Wilcoxon-Rangsummentest ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den aufgeführten Parametern. Durch die pharmakokinetischen Ergebnisse von 16 α -Hydroxyprednisolon wurde das Fehlen einer pharmakokinetischen Interaktion zwischen Budesonid und Metronidazol bestätigt.

Tab. 8: Pharmakokinetische Parameter von 16 α -OH-Prednisolon.

	<i>Ohne Metronidazol</i> <i>(Tag 1)</i>	<i>Mit Metronidazol</i> <i>(Tag 9)</i>
<i>16α-OH-Prednisolon</i>		
C _{max} (ng/ml)	8,94 \pm 3,76	9,92 \pm 2,70
t _{max} (h)	5,3 (4,5-6,8)	4,5 (4,0-5,1)
t _{lag} (h)	2,8 (1,9-3,6)	2,5 (1,8-3,1)
AUC _{0-∞} (h*ng/mL)	33,27 \pm 6,29	33,69 \pm 6,19
t _{1/2} (h)	1,6 (1,3-2,7)	2,0 (1,6-2,5)

Das durchschnittliche und individuelle Plasma-Konzentrations-Zeit-Profil von 16 α -Hydroxyprednisolon nach der oralen Einmalgabe von Budesonid an Studientag 1 (ohne Metronidazol) und an Studientag 9 (mit Metronidazol im Steady-State) ist in Abb. 5 und 6 dargestellt.

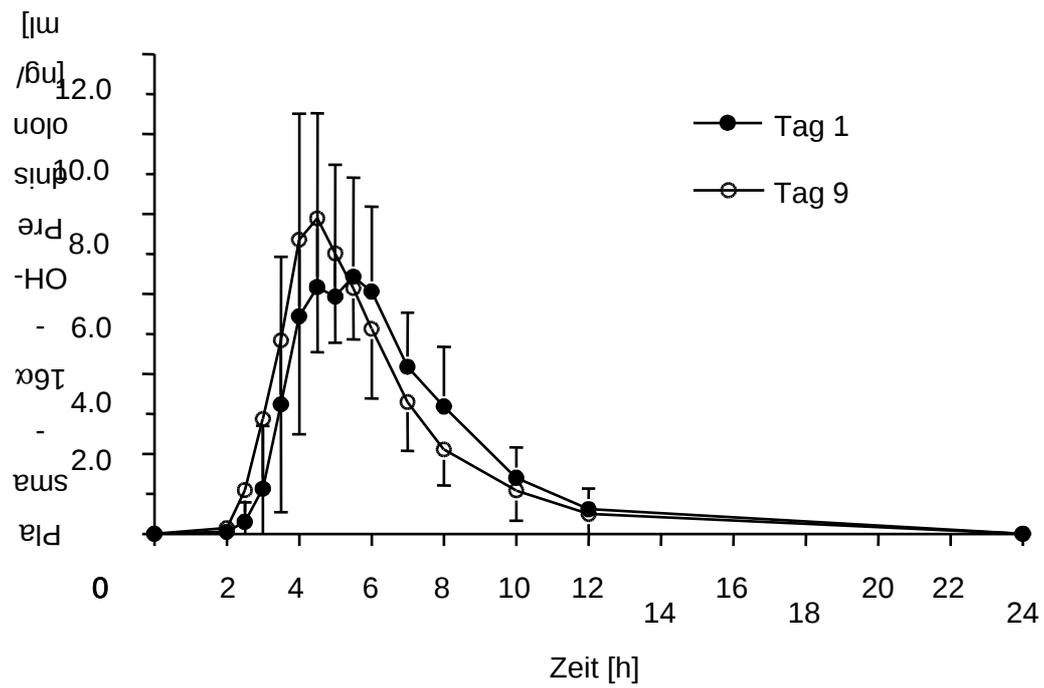


Abb. 5: Zeitlicher Verlauf der 16α-Hydroxyprednisolon-Plasmakonzentrationen mit (Tag 9) und ohne (Tag 1) Metronidazol (Mittelwerte und Standardabweichungen; n=12).

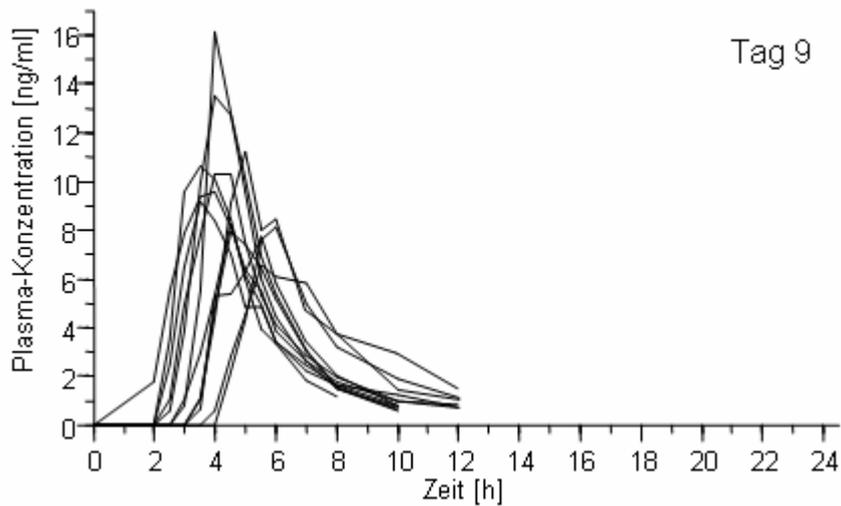
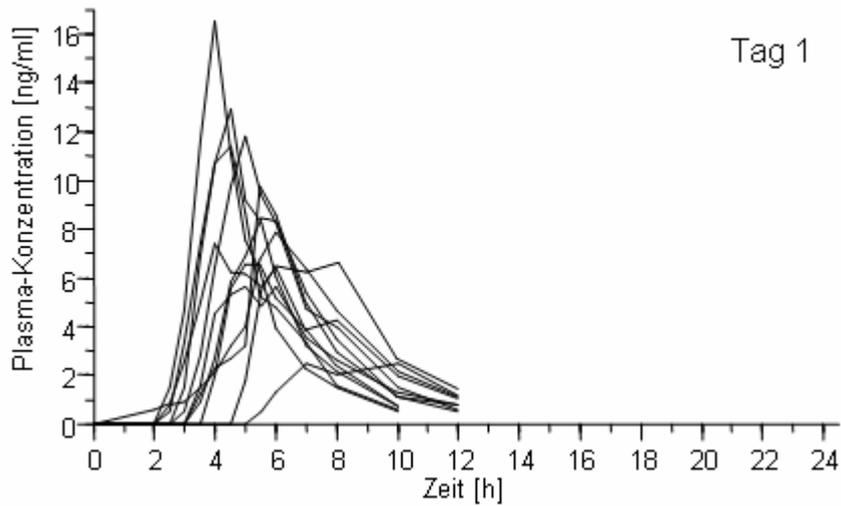


Abb. 6: Überlagerungen der individuellen Konzentrations-Zeit-Kurven von 16 α -Hydroxyprednisolon nach der Einmalgabe von 3 mg Budesonid an Studientag 1 (oben: ohne Metronidazol) und Studientag 9 (unten: mit Metronidazol im Steady-State nach 2 x 750 mg von Tag 2 bis Tag 8 und 1 x 750 mg an Tag 9).

3.3.4. Vergleich von 6β-Hydroxybudesonid zwischen Studientag 1 und 9

Um die Bioäquivalenz der Pharmakokinetik von 16α-Hydroxyprednisolon zwischen Tag 1 und Tag 9 abzuschätzen, wurden die 90%-Konfidenzintervalle für die Ratios von $AUC_{(0-t_{last})}$, $AUC_{(0-\infty)}$, $AUC_{(0-24h)}$, C_{max} und $t_{1/2}$ berechnet (Tab. 9). Es wurde außerdem kein relevanter Unterschied in t_{max} von 16α-Hydroxyprednisolon zwischen Tag 1 und Tag 9 ermittelt. Die metabolischen Ratios $MR_{(0-\infty)}$ (berechnet aus $AUC_{(0-\infty)}$ (16α-Hydroxyprednisolon) / $AUC_{(0-\infty)}$ (Budesonid)) und $MR_{(0-24h)}$ (berechnet aus $AUC_{(0-24h)}$ (16α-Hydroxyprednisolon) / $AUC_{(0-24h)}$ (Budesonid)) unterschieden sich nicht zwischen Tag 1 und Tag 9.

Tab. 9: Parametrische Punktschätzungen und 90%-Konfidenzintervalle für die Ratio "Tag 9/Tag 1" für 16α-Hydroxyprednisolon (n=12).

		Ratio (Tag 9 / Tag 1)	90%-CI	
			Untere Grenze	Obere Grenze
16-OH-Prednisolon	$AUC_{0-t_{last}}$ [h x ng/ml]	1,04	0,95	1,13
16-OH-Prednisolon	$AUC_{0-\infty}$ [h x ng/ml]	1,01	0,97	1,06
16-OH-Prednisolon	C_{max} [ng/ml]	1,18	0,95	1,47

3.4. Ratios der CYP3A-abhängigen Metabolitenbildung aus Budesonid

Die Gabe von 1,5 g Metronidazol pro Tag über eine Woche beeinflusste die Metabolisierung von Budesonid mittels CYP3A nicht. Weder die Bildung von 6β-Hydroxybudesonid noch die Entstehung von 16α-Hydroxyprednisolon war signifikant durch Metronidazol reduziert (AUC_{Met}/AUC_{Bud} : $2.1 \pm 0,8$ vs. $2,0 \pm 0,7$, 6β-Hydroxybudesonid; $8,3 \pm 3,6$ vs. $9,1 \pm 4,7$, 16α-Hydroxyprednisolon; Tag 1 vs. Tag 9; Abb. 7).

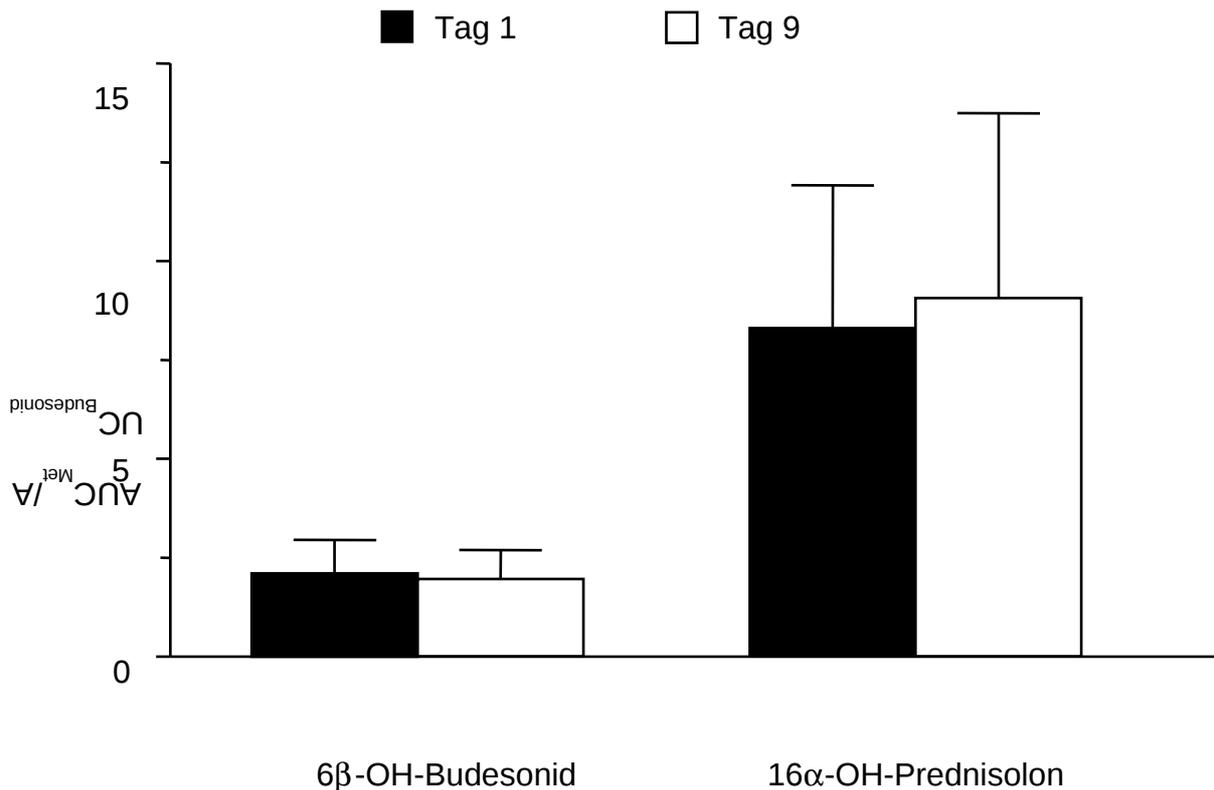


Abb. 7: Ratios der CYP3A-abhängigen Metabolitenbildung ($AUC_{\text{Metabolite}} / AUC_{\text{Budesonid}}$) im Anschluss an eine Einmalgabe von 3 mg Budesonid an Studientag 1 vor (*schwarz*) und an Studientag 9 nach (*weiß*) einer Gabe von zweimal täglich Metronidazol (insgesamt 1,5 g/Tag) über sieben Tage mit der letzten Gabe am Morgen von Studientag 9 (750 mg).

3.5. Pharmakokinetische Ergebnisse von Metronidazol

3.5.1. Konzentrationen und pharmakokinetische Parameter

Die Plasmatakonzentrationen von Metronidazol unterschieden sich zwischen den Studientagen 6-8 nicht signifikant, so dass von einem Steady-State an Studientag 8 ausgegangen werden konnte. Der Vergleich der pharmakokinetischen Ausgangswerte von Metronidazol im Steady-State an Studientag 8 (Mittelwert \pm Standardabweichung oder Median mit 95%-Konfidenzintervall) zu den pharmakokinetischen Parametern und Konzentrationen nach der Wirkung einer Einzeldosis Budesonid an Studientag 9 ist in Tabelle 10 zu sehen. Der Wilcoxon-Rangsummentest ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Höchstkonzentration ($C_{\text{ss,max}}$), $t_{\text{ss,max}}$ und PTF. Die $AUC_{\text{ss,0-12}}$ und die Talkonzentration

($C_{ss,min}$) von Metronidazol waren an Studientag 9 signifikant niedriger als an Studientag 8 (p -Wert $<0,05$). Das 90%-Konfidenzintervall von beiden AUC- und C_{max} -Ratios von Metronidazol während der Gabe von Budesonid (AUC: 0,91-1,00, C_{max} : 0,90-1,08) war begrenzt durch die Ratio of Means, die in der Nähe von 1,0 lag (AUC: 0,96, C_{max} : 0,99).

Tab. 8: Pharmakokinetische Parameter von Metronidazol an Studientag 8 (ohne Budesonid) und an Studientag 9 (mit Budesonid).

	<i>Ohne Budesonid</i> <i>(Tag 8)</i>	<i>Mit Budesonid</i> <i>(Tag 9)</i>
$C_{ss,max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	27,6 \pm 5,1	26,9 \pm 2,9
$t_{ss,max}$ (h)	0,5 (0,5-0,8)	0,5 (0,5-0,8)
$C_{ss,min}$ ($\mu\text{g/ml}$)	11,4 \pm 2,5	10,6 \pm 2,1
$AUC_{ss,0-12h}$ ($\text{h} \cdot \mu\text{g/ml}$)	193,6 \pm 28,0	184,6 \pm 23,6
PTF (%)	101,4 \pm 22,1	107,9 \pm 23,3

Das durchschnittliche und individuelle Plasma-Konzentrations-Zeit-Profil von Metronidazol nach der oralen Mehrfachgabe (2 x 750 mg) von Metronidazol von Studientag 2 bis Studientag 8 (ohne Budesonid) und an Studientag 9 (1 x 750 mg Metronidazol mit einer Einzeldosis von 3 mg Budesonid) ist in Abb. 7 und 8 dargestellt.

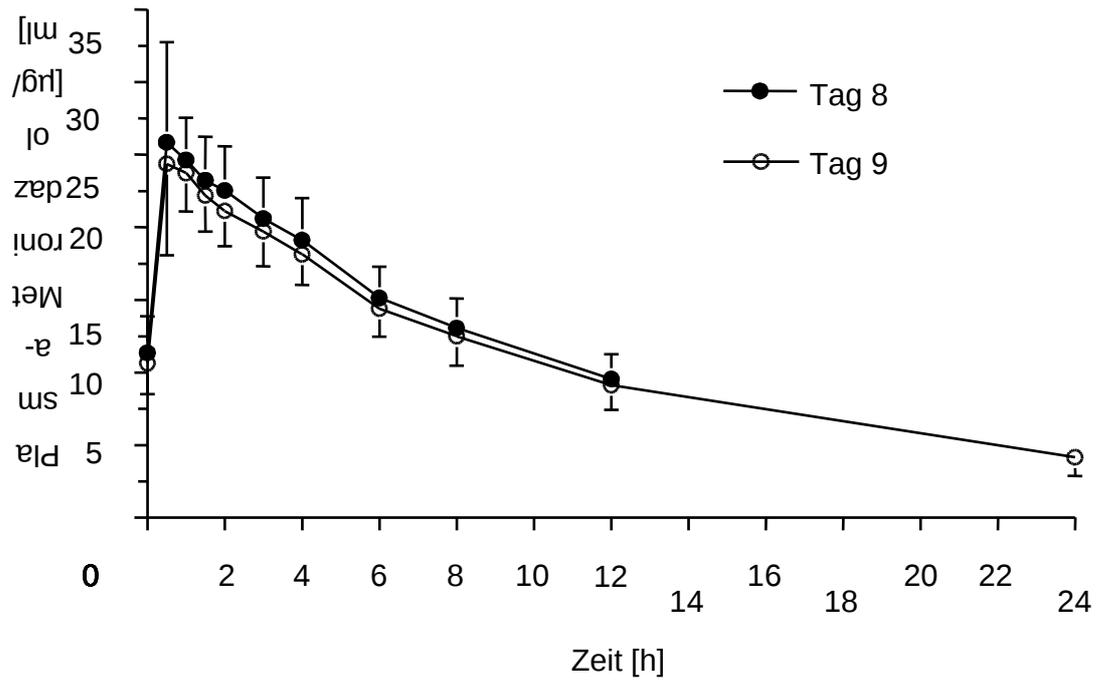


Abb. 8: Zeitlicher Verlauf der Metronidazol-Plasmakonzentrationen mit (Tag 9) und ohne (Tag 8) Budesonid (Mittelwerte und Standardabweichungen; n=12).

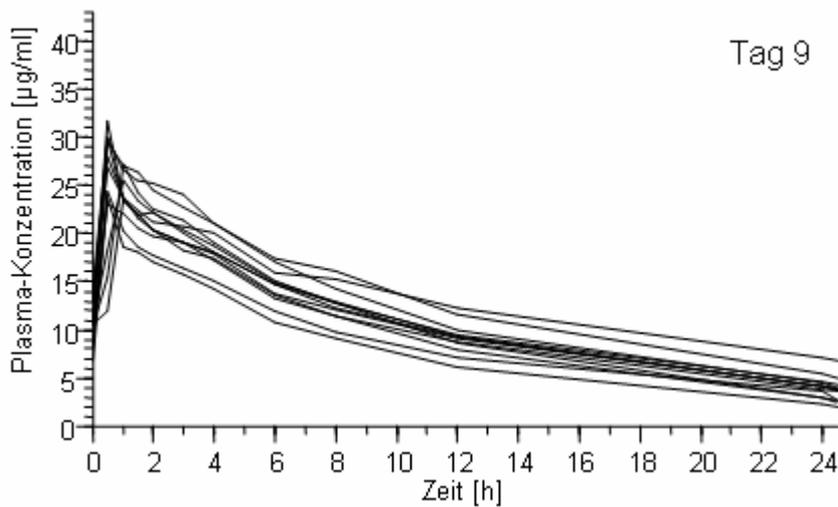
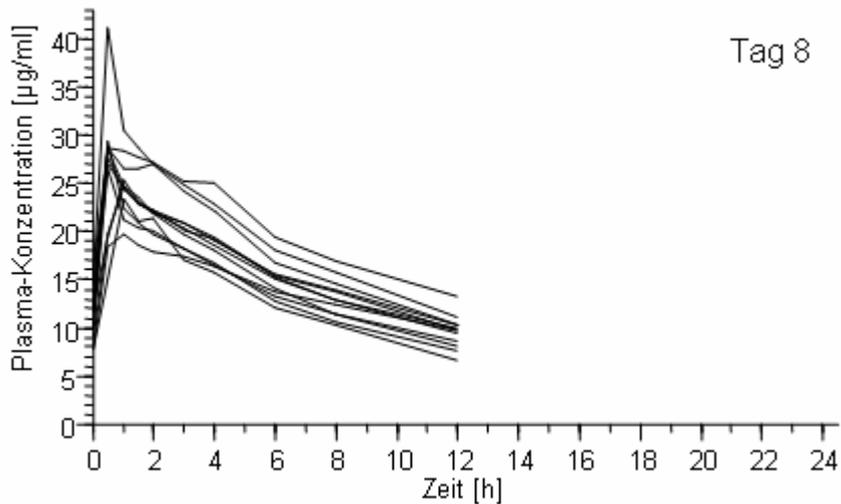


Abb. 8: Überlagerungen der individuellen Konzentrations-Zeit-Kurven von Metronidazol nach der oralen Mehrfachgabe (2 x 750 mg) von Metronidazol von Studientag 2 bis Studientag 8 (oben: ohne Budesonid) und Studientag 9 (unten: 1 x750 mg Metronidazol mit einer Einzeldosis von 3 mg Budesonid).

3.5.1. Vergleich von Metronidazol zwischen Studientag 8 und 9

Um die Bioäquivalenz der Pharmakokinetik von Metronidazol zwischen Tag 8 und Tag 9 abzuschätzen, wurden parametrische Punktschätzungen und die 90%-

Konfidenzintervalle für die Ratios von $AUC_{ss,0-12h}$, $C_{ss,max}$, $PTF\%$, CL/F_{ss} , V/F_{ss} und $t_{1/2}$ berechnet (Tab. 11). Es wurde kein relevanter Unterschied für t_{max} von Metronidazol zwischen Tag 8 und Tag 9 ermittelt.

Tab. 11: Parametrische Punktschätzungen und 90%-Konfidenzintervalle für die Ratio "Tag 9/Tag 8" für Metronidazol (n=12).

		Ratio (Tag 9 / Tag 8)	90%-CI	
			Untere Grenze	Obere Grenze
Metronidazol	$AUC_{ss,0-12h}$ [h x $\mu\text{g/ml}$]	0,96	0,91	1,00
Metronidazol	$C_{ss,max}$ [$\mu\text{g/ml}$]	0,99	0,90	1,08

3.6. Pharmakodynamische Ergebnisse

3.6.1. Vergleich der Biotransformation von Cortisol zwischen Studientag 1 und 9

Parallel zur Kinetik der Metabolite von Budesonid ändert sich die CYP3A-abhängige Biotransformation von Cortisol nicht signifikant durch die Einnahme von hochdosiertem Metronidazol über eine Woche ($Ae_{6\beta\text{-OH-Cortisol}}/Ae_{\text{Cortisol}}$: $7,6 \pm 4,3$ vs. $6,7 \pm 3,4$, Tag 1 vs. Tag 9; Tab. 12, Abb. 9).

Tab. 12: Ausscheidung von 6β -Hydroxycortisol und freiem Cortisol (n=12).

	Tag 1	Tag 9
Ae_{0-12h} (6β -Hydroxycortisol) [μg]	$131,5 \pm 31,0$	$120,0 \pm 43,6$
Ae_{0-12h} (freies Cortisol) [μg]	$21,7 \pm 10,3$	$21,3 \pm 10,3$
Cortisol Ratio (CR)	$7,6 \pm 4,3$	$6,7 \pm 3,4$

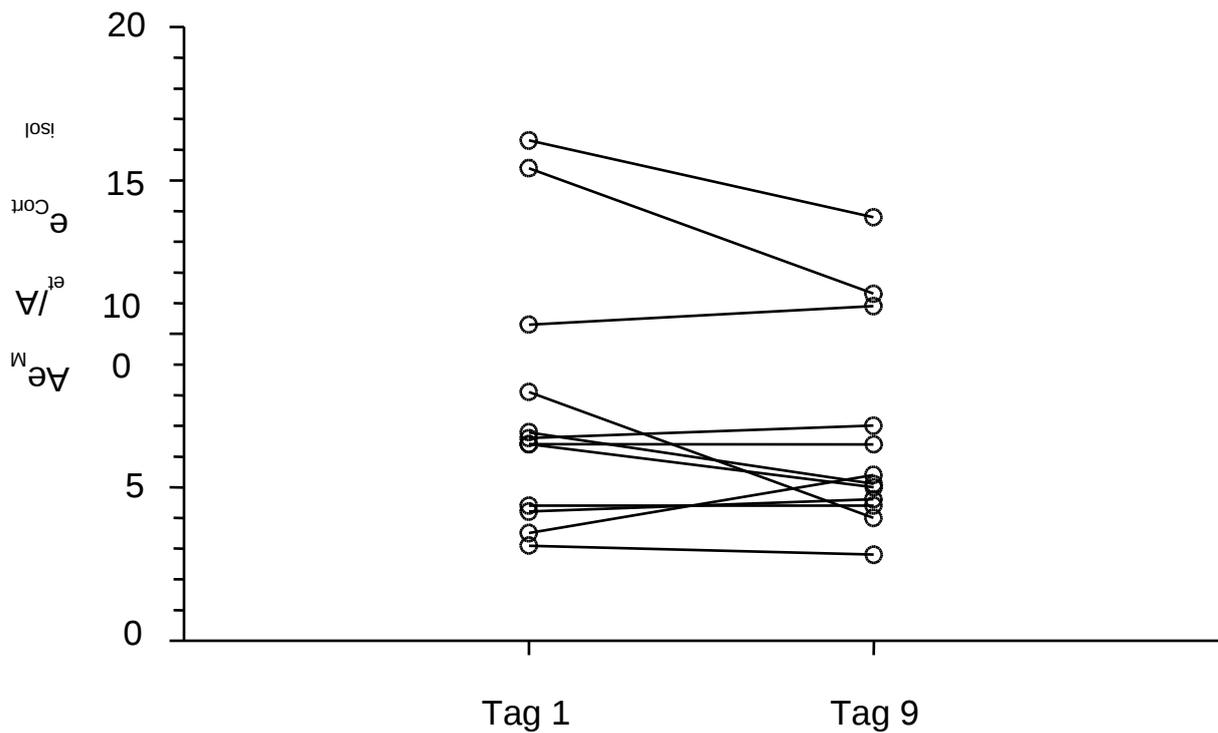


Abb. 9: CYP3A-abhängige Biotransformation von Cortisol ($Ae_{\text{Metabolit}} / Ae_{\text{Cortisol}}$ wobei $Ae_{\text{Metabolit}}$ die Ausscheidung von 6β -Hydroxycortisol innerhalb von 12 Stunden ist und Ae_{Cortisol} die Cortisolausscheidung innerhalb von 12 Stunden ist) an Studientag 1 vor und an Studientag 9 nach einer Gabe von zweimal täglich Metronidazol (insgesamt 1,5 g/Tag) über sieben Tage mit der letzten Gabe am Morgen von Studientag 9 (750 mg).

4. Diskussion

4.1. Diskussion der Methode

Die Arzneimitteldosierungen wurden entsprechend der gewünschten therapeutischen Tagesdosierung gewählt und wurden anhand von früheren Studien und der empfohlenen Dosierungen festgelegt.

Die an einen Probanden verabreichte Gesamtmenge an Budesonid war 6 mg. Zwei Einzeldosen von 3 mg Budesonid innerhalb eines Zeitintervalls von 8 Tagen stellten aufgrund der raschen Metabolisierung von Budesonid in der Leber kein übermäßiges Risiko bezüglich glukokortikoidtypischer Nebenwirkungen dar (Hofer, 2003).

Die an einen Probanden verabreichte Gesamtmenge an Metronidazol war 11.250 mg. Bei 2 x 750 mg/Tag Metronidazol für 8 Tage wurde erwartet, dass der Blutspiegel hoch genug für analytische Bestimmungen und Berechnungen von pharmakokinetischen Parametern war. Um die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Interaktion zu erhöhen, verabreichten wir die maximal erlaubte Dosis von Metronidazol in einem Behandlungszeitraum von länger als 3 Tagen. Dennoch fanden wir keine solche Medikamenteninteraktion. Die Plasmatakonzentrationen von Metronidazol unterschieden sich zwischen den Studientagen 6-8 nicht signifikant, so dass von einem Steady-State an Studientag 8 ausgegangen werden konnte.

Metronidazol wurde bei der empfohlenen Dosis und der empfohlenen Anwendungsdauer (2 x 750 mg/Tag für 8 Tage) gut toleriert. Da in der Behandlung von Morbus Crohn mit Metronidazol hohe Dosen (750 mg dreimal täglich) für lange Zeit notwendig sein können (Podolsky, 2002), wurde in der vorliegenden Studie hochdosiert Metronidazol verabreicht. Jedoch unter der Berücksichtigung, dass es eine Nebenwirkungsinzidenz von unter 5% hat und in der Regel gut toleriert wird, wenn man es in Mengen von weniger als 2 g/Tag verabreicht. Seine Nebenwirkungen sind in der Regel gutartig (Brunton et al., 2006).

4.2. Die Rolle der CYP3A-Enzyme bei Arzneimittel-Interaktionen

Arzneimittel-Interaktionen spiegeln ein ernsthaftes Problem in der klinischen Praxis wider. Durch eine größere Kenntnis über Arzneimittel-metabolisierende Enzyme und deren Rolle in der Biotransformation von bestimmten Substanzen wäre es einfacher solche Interaktionen in vivo aufzudecken (Tucker et al., 2001).

Die Cytochrom-P450-Enzyme (CYP) bilden eine Superfamilie von Isoenzymen, die eine wichtige Rolle bei der oxidativen Metabolisierung von Arzneimitteln, Karzinogenen und toxischen Chemikalien spielen (Gonzalez, 1992). Die individuellen CYP-Isoenzyme weisen eine beachtliche Überlappung ihrer Substratspezifität auf. CYP3A4 ist das am häufigste vorkommende CYP-Isoenzym und ist mit einem Anteil von 30% und mehr das am stärksten exprimierte Isoenzym in der Leber (Shimada et al., 1994). Die Hälfte der Arzneimittel, die heutzutage eingesetzt werden, wird durch das CYP3A-Enzym metabolisiert (Guengerich, 1999; Thummel und Wilkinson, 1998). Die klinische Ermittlung der CYP3A-Hemmung ist von großer Bedeutung, da diese Art von Medikamenteninteraktionen zu ernsthaften Sicherheitsrisiken führen kann (Monahan et al., 1990).

Die Änderung des Metabolismus eines Arzneimittels durch die gleichzeitige Gabe eines weiteren Arzneimittels ist eine häufige Ursache für eine Arzneimittel-Interaktion (Lin und Lu, 1998). Dies kann durch eine Induktion der CYP-Enzyme verursacht sein, was eine Beschleunigung der Medikamentenmetabolisierung und einen Abfall der Medikamenten-Plasmakonzentration zur Folge haben kann, oder durch eine Hemmung, was eine erhöhte Medikamenten-Plasmakonzentration und dadurch eine erhöhte unerwünschte Arzneimittelwirkung zur Folge haben kann (Dresser et al., 2000). Klinisch kann sich dies in einem Therapieversagen oder in einer verstärkten Toxizität äußern (Monahan et al., 1990).

4.3. Metronidazol als Inhibitor von CYP3A

Imidazolderivate, wie zum Beispiel Ketoconazol oder Itraconazol, die strukturell ähnlich sind wie Metronidazol, verursachen eine fünffache Erhöhung der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) von CYP3A-Substraten (Dresser et al., 2000).

Interessanterweise gibt es Fallberichte, die einen Anstieg der Plasmakonzentrationen einiger Substrate von CYP3A und von P-gp durch Metronidazol beschreiben. Bei einem 24-jährigen nierentransplantierten Patienten wurde möglicherweise die Tacrolimuskonzentration (2 x 4 mg/Tag für 2 Monate) durch gleichzeitige Gabe von Metronidazol (4 x 500 mg/Tag) erhöht (Page et al., 2005). Die Autoren haben vermutet, dass eine mögliche Interaktion durch die schwache Hemmung von CYP3A4 und P-Glykoprotein verursacht worden sein könnte.

In ähnlichen Fallberichten mit anderer Komedikation (Ciclosporin, Carbamazepin, Chinidin) wird ebenfalls die Möglichkeit der Hemmung des CYP3A-Enzyms durch Metronidazol und die daraus resultierende Konzentrationserhöhung der Komedikation beschrieben (Herzig und Johnson, 1999; Cooke et al., 1996; Spina et al., 1996; Vincent et al., 1994; Patterson, 1994; Zylber-Katz et al., 1988). Zwei der Fallberichte dokumentieren eine deutliche Erhöhung der Konzentration von Tacrolimus bei der gleichzeitigen Gabe von Metronidazol (Page et al., 2005; Herzig und Johnson, 1999), und drei der Fallberichte beschreiben einen gesundheitsschädlichen Anstieg der Ciclosporin-Konzentrationen bei Patienten mit gleichzeitiger Metronidazol-Gabe (Herzig und Johnson, 1999; Vincent et al., 1994; Zylber-Katz et al., 1988). Einige der Autoren schlugen sogar vor, Metronidazol solle in die Liste der CYP-Inhibitoren aufgenommen werden, da es klinisch relevante Arzneimittel-Interaktionen hervorrufen könne.

Ein weiterer Bericht beschreibt das Auftreten von Torsades des Pointes bei der gleichzeitigen Gabe von Amiodaron und 1,5 g Metronidazol pro Tag bei einer 71-jährigen Patientin. Jedoch lieferte der Bericht keine Information über die Wirkstoffkonzentrationen im Plasma für eine präzise Interpretation (Kounas et al., 2005).

Die vorliegende Untersuchung wurde in der Kenntnis begonnen, dass es keine einfache Beziehung zwischen der Potenz der In-vitro-Hemmung einer Substanz und dem Ausmaß der Arzneimittel-Interaktion im klinischen Rahmen gibt. Einige CYP3A-Inhibitoren, welche keine hohe In-vitro-Potenz besitzen, wiesen darauf hin, dass sie eine Arzneimittel-Interaktion auslösen können, mit mehr als der 2-fachen Zunahme der AUC. Dies ist der Fall bei einem CYP3A-Inhibitor, der eine irreversible Inaktivierung verursacht (z. B. Clarithromycin, Diltiazem) (Obach et al., 2005). Im Gegensatz zu den anderen humanen CYP-Enzymen besitzt das CYP3A den erschwerenden Faktor, dass verschiedene Formen der Substratbindung auftreten können (Kenworthy et al., 1999) und vier unterschiedliche Mitglieder (CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43) der CYP3A-Enzymfamilie bekannt sind (Gellner et al., 2001). Außerdem ist das Ausmaß der Wechselwirkung mit dem CYP3A-Enzym von der intestinalen im Vergleich zur hepatischen Extraktion abhängig. Diejenigen Medikamente, die eine größere intestinale Extraktion besitzen, weisen eine höhere Wechselwirkung auf (Obach et al., 2005). Deshalb könnte sich im Hinblick auf die CYP3A-Hemmung durch hochdosiertes Metronidazol die sehr geringe

Bioverfügbarkeit von oral verabreichtem Budesonid um ein mehrfaches erhöhen. Zumindest eine Verdopplung der systemischen Belastung in Gegenwart eines Inhibitors würde eine Kennzeichnung auf dem Beipackzettel erfordern (Tucker et al., 2001).

4.4. Metronidazol ohne Effekt auf CYP3A

Neben den erwähnten Beobachtungen, die vermuten lassen, dass Metronidazol ein CYP3A-Inhibitor sein könnte, gibt es auch Berichte, die keine Veränderungen von Metronidazol auf die CYP3A-Aktivität beschreiben.

An fünf gesunden Freiwilligen wurden die Auswirkungen auf die hepatische CYP3A4-Aktivität nach einer Gabe von 3 x 500 mg Metronidazol verteilt über einen Tag untersucht. Die Enzymfunktion wurde mit einem Erythromycin-Atemtest unter Verwendung von ¹⁴C-markiertem Erythromycin getestet. Die erhobenen Daten lassen darauf schließen, dass Metronidazol nicht signifikant die hepatische CYP3A-Aktivität beeinflusst (Haas et al., 2001). Da jedoch die Probandenzahl gering und der Einnahmezeitraum von Metronidazol sehr kurz war, kann nicht die Möglichkeit ausgeschlossen werden, dass bei einer länger dauernden Metronidazolgabe ein signifikanter Effekt auf die CYP3A-Aktivität auftreten würde.

Neben Erythromycin, Ciclosporin und Alprazolam ist Midazolam eine weitere Substanz, die üblicherweise als Substrat CYP3A-abhängiger Interaktionen verwendet wird (Streetman et al., 2000). Von Bedeutung ist, dass Midazolam, ein Substrat für das hepatische und intestinale CYP3A4/5, im Gegensatz zu vielen anderen CYP3A-Substrate kein Substrat von P-gp ist (Kim et al., 1999). Da Midazolam nicht durch P-gp transportiert wird, wirkt sich eine P-gp-Modulation durch eine Begleitmedikation nicht auf die Midazolamkonzentration aus. Dazu ergab eine klinische Untersuchung mit 10 gesunden Freiwilligen über die beeinflussenden Eigenschaften von niedrigdosiertem Metronidazol (2x400 mg/d über 3 Tage) auf CYP3A keinen Effekt. Die AUC-Ratio im Plasma von Midazolam betrug 0,93 (Wang et al., 2000). Da diese Studie jedoch lediglich den Effekt von niedrigdosiertem Metronidazol innerhalb einer kurzen Behandlungsdauer untersucht hat, kann ihr Ergebnis nicht die Möglichkeit ausschließen, dass bei einer höheren Dosierung oder einer längeren Behandlungsdauer ein signifikanter Effekt von Metronidazol auf die CYP3A-Aktivität auftritt, wie in neueren Fallberichten beschrieben wurde. Um die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Interaktion zu erhöhen, verabreichten wir

die maximal zugelassene Dosis von Metronidazol in einem Behandlungszeitraum von länger als 3 Tagen. Dennoch fanden wir keine solche Medikamenteninteraktion. Zusätzlich zu den Daten der Fallberichte gibt es einige Untersuchungen in vitro und in vivo, die den Einfluss von Metronidazol auf den Metabolismus mehrerer CYP3A-Substrate untersuchen. Jedoch wies keines der Substrate in der Gegenwart von Metronidazol eine signifikante pharmakokinetische Veränderung auf (Maurice et al., 1992; Wang et al., 2000; Blyden et al., 1988). Maurice et al. beurteilten die Wirkung von Metronidazol auf die CYP3A-Aktivität durch Mikrosomen aus der menschlichen Leber. Der Test wurde mit verschiedenen Metronidazolkonzentrationen (0-300 µM) durchgeführt und ergab keine signifikante Hemmung der CYP3A-Aktivität. Dies wurde durch den Einfluss von Metronidazol auf den Metabolismus des CYP3A4-Substrats Erythromycin und des CYP3A4/5-Substrats Ciclosporin beurteilt. Metronidazol verringerte den Metabolismus von Erythromycin um 2-14% und den Metabolismus von Ciclosporin um 6%, jedoch war das Ausmaß dieser Inhibition nicht statistisch signifikant ($p > 0,05$). Obwohl die Schlussfolgerungen der beschriebenen In-vitro-Messungen größtenteils überzeugen, spiegeln in der Regel am Menschen durchgeführte Untersuchungen den Goldstandard wider, der dem Nachweis oder dem Widerlegen einer Arzneimittel-Interaktion dient. Insbesondere liefert eine Studiendurchführung mit gesunden Probanden die sichersten Ergebnisse in Bezug auf die Möglichkeit und das Ausmaß von Arzneimittel-Interaktionen in der klinischen Therapie (von Moltke et al., 1998).

4.5. Wirkung von Metronidazol auf Budesonid

In einer Studie zum pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Verhalten von Budesonid bei Kindern und Jugendlichen mit Morbus Crohn kam es zu einer unerwarteten Interaktion zwischen Metronidazol und oral verabreichtem Budesonid. Ein Patient, der Metronidazol (1,2 g pro Tag über 12 Tage) bis zum Vorabend der ersten Einnahme von Budesonid einnahm, zeigte eine außergewöhnlich verzögerte Resorption von Budesonid, was eine Woche später nach Absetzen von Metronidazol nicht mehr beobachtet wurde. Eine Überprüfung der Ergebnisse war nicht möglich, da dem Patienten kurze Zeit später das Ileum reseziert wurde (Dilger et al., 2006). Die Ergebnisse unserer Studie bestätigen nicht die vorausgegangenen Beobachtungen: Die Resorption von Budesonid wurde nicht durch Metronidazol verzögert. Ein veränderter intraluminaler pH, eine verzögerte Magenentleerung oder

Darmpassage könnten die verzögerte Resorption von Budesonid in diesem Einzelfall erklären.

In der vorliegenden Studie wird gezeigt, dass hochdosiertes Metronidazol keinen Einfluss auf die Pharmakokinetik von oral verabreichtem Budesonid, einem Substrat von CYP3A und P-gp (Dilger et al., 2004; Jönsson et al., 1995), hat und somit kein relevanter Inhibitor des CYP3A-Enzyms ist. Wir beobachteten keinen Anstieg der Plasma-AUC von Budesonid (Punktschätzung = 0,9) nach der zusätzlichen Einnahme von Metronidazol. Die tägliche Einnahme von 1,5 g Metronidazol pro Tag in einem Zeitraum von einer Woche beeinflusste die Biotransformation von oral verabreichtem Budesonid über das Enzym CYP3A nicht signifikant, wie in umfassenden Analysen über die Kinetik der Metaboliten im Plasma gezeigt wurde. Die AUC-Ratios von 6 β -Hydroxybudesonid/Budesonid und von 16 α -Hydroxyprednisolon/Budesonid wurden als Marker für die CYP3A-Aktivität mit Hilfe des prototypischen Induktors Rifampicin bestätigt (Dilger et al., 2005). Auch gab es keinen signifikanten Effekt von hochdosiertem Metronidazol auf die Ausscheidung von 6 β -Hydroxycortisol über den Urin, was einen validen Beweis für die Induktion und Inhibition des CYP3A-Enzyms darstellen würde (Galteau und Shamsa, 2003).

Viele Kliniker sind sich unsicher darüber, wie sie sich verhalten sollen, wenn widersprüchliche Informationen hinsichtlich des Interaktionspotentials von Metronidazol auftreten. Falls angenommen wird, dass Metronidazol ein CYP3A-Inhibitor ist und es deshalb Patienten vorenthalten wird, die gleichzeitig CYP3A-Substrate erhalten, dann kann es dazu führen, dass ein alternatives und möglicherweise weniger effektives Antibiotikum verordnet wird.

Fassen wir unsere gesammelten Daten der CYP3A-abhängigen Metabolitenbildung von Budesonid und der CYP3A-abhängigen Biotransformation von Cortisol zusammen, dann gehen wir davon aus, dass Patienten mit Morbus Crohn, die mit der Standarddosierung von Budesonid behandelt werden, während der Einnahme von Metronidazol keine Risikoerhöhung für cushingoide Symptome und andere steroidabhängigen Nebenwirkungen haben. Diese Erkenntnis ist wichtig für Kliniker und Patienten, insbesondere weil Antibiotika (Metronidazol und Ciprofloxacin) als Mittel der ersten Wahl bei Morbus Crohn mit Fistelbildung eingesetzt werden (Bressler und Sands, 2006) und da Metronidazol bei der Verhinderung postoperativer Crohn-Rezidive helfen kann (Perencevich und Burakoff, 2006; Rutgeerts et al., 1995; Sutherland et al., 1991).

4.6. Metronidazol als Inhibitor von P-gp

Es kam zu Spekulationen über die Diskrepanz zwischen den Fallberichten und den Ergebnissen der klinischen Versuche. In einem Bericht wurde sogar angenommen, dass Metronidazol ein Inhibitor oder ein Substrat von P-gp sein könnte (Wang et al., 2000). Allerdings wurde in den oben erwähnten Fallberichten und Studien oft nicht beachtet, dass Medikamente, die CYP3A-Substrate sind, auch P-gp-Substrate sein können. Wie zum Beispiel im Fall von Ciclosporin und Tacrolimus (Saeki et al., 1993; Yokogawa et al., 1999). Dadurch wäre die Möglichkeit gegeben, dass die erhöhten Plasmakonzentrationen, die von Herzig und Johnson beobachtet wurden, durch eine P-gp-Hemmung durch Metronidazol verursacht worden sein könnten. Eine P-gp-Hemmung würde zu einer erhöhten Plasmakonzentration von Medikamenten führen, die P-gp-Substrate sind.

P-gp ist das Genprodukt des MDR1-Gens (Multidrug-Resistance-1). Es wird in unterschiedlichen Geweben exprimiert, wie zum Beispiel in der Leber, Niere oder Darmmukosa (Thiebaut et al., 1987). Im Gastrointestinaltrakt ist P-gp in der apikalen Enterozytenmembran lokalisiert, wo es P-gp-Substrate aus den Enterozyten zurück in das Darmlumen transportiert. Mit dieser Funktion wird die Resorption von Arzneimitteln limitiert. Falls dieser Ablauf durch einen P-gp-Inhibitor beeinträchtigt wird, könnte das P-gp-Substrat stärker resorbiert werden und somit zu einer höheren Plasmakonzentration führen. Ähnlich verhält es sich bei der Hemmung des P-gp in der Leber und Niere, was ebenso zu einer erhöhten Plasmakonzentration der Arzneimittel führt, die P-gp-Substrate sind (Benet et al., 1999).

Es ist oft schwierig, den Einfluss von P-gp im Vergleich zur CYP3A-Modulation festzustellen, besonders bei dem Versuch, den Interaktionsmechanismus zweier Medikamente herauszufinden (Penzak, 2005). Jedoch sind nach unserer Kenntnis für diesen interessanten Sachverhalt keine Daten verfügbar. Es ist unbekannt, ob der Effekt von Metronidazol auf Tacrolimus oder die anderen oben erwähnten Substrate aufgrund von Veränderungen in der Aktivität von CYP3A oder von P-gp oder beiden stattfindet. Jedoch falls Metronidazol signifikant den Arzneimittel-Metabolismus verändern würde, dann hätte man eine veränderte Resorption oder Elimination von Budesonid, das ein Substrat sowohl von P-gp als auch von CYP3A ist, beobachten müssen. Deshalb sind weitere Studien notwendig, um festzustellen, ob Metronidazol ein Substrat und/oder ein Inhibitor von P-gp ist.

5. Zusammenfassung

Das CYP3A-Enzym spielt eine wichtige Rolle bei der oxidativen Metabolisierung von Arzneimitteln. Die Hälfte der Arzneimittel, die heutzutage im Einsatz sind, werden durch das CYP3A-Enzym metabolisiert. Aufgrund von neuen Fallberichten könnte die zusätzliche Gabe von hochdosiertem Metronidazol in Verbindung mit erhöhten Plasmakonzentrationen von CYP3A-Substraten stehen. Zum Beispiel profitieren Patienten mit perianalen Fisteln bei Morbus Crohn von einer Behandlung mit hochdosiertem Metronidazol über einen längeren Zeitraum, wobei sie häufig zusätzliche Arzneimittel einnehmen müssen. Aus diesem Grund war es das Ziel der vorliegenden Probandenstudie die Auswirkungen von hochdosiertem Metronidazol auf die CYP3A-Aktivität anhand eines sensitiven Substrats, in diesem Fall Budesonid, einem synthetischen Glukokortikoid, zu untersuchen. Dafür nahmen 12 gesunde Probanden 1,5 g Metronidazol pro Tag in einem Zeitraum von einer Woche ein. Das CYP3A-abhängige metabolische Profil von oral verabreichtem Budesonid (Einmalgabe 3 mg) und das von endogenem Cortisol wurde vor und nach der Gabe von Metronidazol verglichen. Es gab keine signifikanten Auswirkungen von hochdosiertem Metronidazol auf das pharmakokinetische Profil von Budesonid und seiner CYP3A-abhängigen Metaboliten (16 α -Hydroxyprednisolon, 6 β -Hydroxybudesonid) zwischen Studientag 1 und 9 (z. B. $AUC_{(0-\infty)}$ von Budesonid: $4,88 \pm 2,04$ h*ng/ml vs. $4,77 \pm 2,11$ h*ng/ml, Mittelwert \pm Standardabweichung). Entsprechend veränderte Metronidazol nicht signifikant die CYP3A-abhängige Biotransformation von Cortisol. Zusammengefasst ist hochdosiertes Metronidazol kein relevanter Inhibitor des CYP3A-Enzyms in vivo. Im Gegensatz zu anderen Imidazolderivaten, wie zum Beispiel Ketoconazol, führt die zusätzliche Gabe von Metronidazol nicht zu ernsthaften Sicherheitsbedenken aufgrund von erhöhten Plasmaspiegeln gleichzeitig verabreichter CYP3A-Substrate (zum Beispiel Budesonid).

6. Literaturverzeichnis

Benet, L.Z., Izumi, T., Zhang, Y., Silverman, J.A., Wacher, V.J. (1999) Intestinal MDR transport proteins and P-450 enzymes as barriers to oral drug delivery.

J Control Release., 62, 25-31

Blyden, G.T., Scavone, J.M., Greenblatt, D.J. (1988) Metronidazole impairs clearance of phenytoin but not of alprazolam or lorazepam.

J Clin Pharmacol., 28, 240-245

Bressler, B., Sands, B.E. (2006) Review article: Medical therapy for fistulizing Crohn's disease.

Aliment Pharmacol Ther., 24, 1283-1293

Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L. (2006) Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11th ed. McGraw-Hill, New York

Cooke, C.E., Sklar, G.E., Nappi, J.M. (1996) Possible pharmacokinetic interaction with quinidine: ciprofloxacin or metronidazole?

Ann Pharmacother., 30, 364-366

Dilger, K., Alberer, M., Busch, A., Enninger, A., Behrens, R., Koletzko, S., Stern, M., Beckmann, C., Gleiter, C.H. (2006) Pharmacokinetics and pharmacodynamic action of budesonide in children with Crohn's disease.

Aliment Pharmacol Ther., 23, 387-396

Dilger, K., Denk, A., Heeg, M.H., Beuers, U. (2005) No relevant effect of ursodeoxycholic acid on cytochrome P450 3A metabolism in primary biliary cirrhosis. *Hepatology.*, 41, 595-602

Dilger, K., Schwab, M., Fromm, M.F. (2004) Identification of budesonide and prednisone as substrates of the intestinal drug efflux pump P-glycoprotein. *Inflamm Bowel Dis.*, 10, 578-583

Dresser, G.K., Spence, J.D., Bailey, D.G. (2000) Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Clin Pharmacokinet.*, 38, 41-57

Eradiri, O., Jamali, F., Thomson, A.B. (1988) Interaction of metronidazole with phenobarbital, cimetidine, prednisone, and sulfasalazine in Crohn's disease. *Biopharm Drug Dispos.*, 9, 219-227

Felley, C., Mottet, C., Juillerat, P., Pittet, V., Froehlich, F., Vader, J.P., Michetti, P., Gonvers, J.J. (2007) Fistulizing Crohn's disease. *Digestion.*, 76, 109-112

Freeman, C.D., Klutman, N.E., Lamp, K.C. (1997) Metronidazole. A therapeutic review and update. *Drugs.*, 54, 679-708

Galteau, M.M., Shamsa, F. (2003) Urinary 6beta-hydroxycortisol: a validated test for evaluating drug induction or drug inhibition mediated through CYP3A in humans and in animals.

Eur J Clin Pharmacol., 59, 713-733

Ged, C., Rouillon, J.M., Pichard, L., Combalbert, J., Bressot, N., Bories, P., Michel, H., Beaune, P., Maurel, P. (1989) The increase in urinary excretion of 6 beta-hydroxycortisol as a marker of human hepatic cytochrome P450III_A induction.

Br J Clin Pharmacol., 28, 373-387

Gellner, K., Eiselt, R., Hustert, E., Arnold, H., Koch, I., Haberl, M., Deglmann, C.J., Burk, O., Buntfuss, D., Escher, S., Bishop, C., Koebe, H.G., Brinkmann, U., Klenk, H.P., Kleine, K., Meyer, U.A., Wojnowski, L. (2001) Genomic organization of the human CYP3A locus: identification of a new, inducible CYP3A gene.

Pharmacogenetics., 11, 111-121

Gnarpe, H., Belsheim, J., Persson, S. (1981) Influence of nitroimidazole derivatives on leukocyte migration.

Scand J Infect Dis Suppl., 26, 68-71

Gonzalez, F.J. (1992) Human cytochromes P450: problems and prospects.

Trends Pharmacol Sci., 13, 346-352

Guengerich, F.P. (1999) Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism.

Annu Rev Pharmacol Toxicol., 39, 1-17

Haas, C.E., Kaufman, D.C., DiCenzo, R.C. (2001) Effects of metronidazole on hepatic CYP3A4 activity.

Pharmacotherapy., 21, 1192-1195

Hempfling, W., Grunhage, F., Dilger, K., Reichel, C., Beuers, U., Sauerbruch, T. (2003) Pharmacokinetics and pharmacodynamic action of budesonide in early- and late-stage primary biliary cirrhosis.

Hepatology., 38, 196-202

Herzig, K., Johnson, D.W. (1999) Marked elevation of blood cyclosporin and tacrolimus levels due to concurrent metronidazole therapy.

Nephrol Dial Transplant., 14, 521-523

Hofer, K.N. (2003) Oral budesonide in the management of Crohn's disease.

Ann Pharmacother., 37, 1457-1464

Jönsson, G., Aström, A., Andersson, P. (1995) Budesonide is metabolized by cytochrome P450 3A (CYP3A) enzymes in human liver.

Drug Metab Dispos., 23, 137-142

Kenworthy, K.E., Bloomer, J.C., Clarke, S.E., Houston, J.B. (1999) CYP3A4 drug interactions: correlation of 10 in vitro probe substrates.

Br J Clin Pharmacol., 48, 716-727

Kim, R.B., Wandel, C., Leake, B., Cvetkovic, M., Fromm, M.F., Dempsey, P.J., Roden, M.M., Belas, F., Chaudhary, A.K., Roden, D.M., Wood, A.J., Wilkinson, G.R. (1999) Interrelationship between substrates and inhibitors of human CYP3A and P-glycoprotein.
Pharm Res., 16, 408-414

Kling, P.A., Burman, L.G. (1989) Serum and tissue pharmacokinetics of intravenous metronidazole in surgical patients.
Acta Chir Scand., 155, 347-350

Kounas, S.P., Letsas, K.P., Sideris, A., Efraimidis, M., Kardaras, F. (2005) QT interval prolongation and torsades de pointes due to a coadministration of metronidazole and amiodarone.
Pacing Clin Electrophysiol., 28, 472-473

Lamp, K.C., Freeman, C.D., Klutman, N.E., Lacy, M.K. (1999) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the nitroimidazole antimicrobials.
Clin Pharmacokinet., 36, 353-373

Lau, A.H., Lam, N.P., Piscitelli, S.C., Wilkes, L., Danziger, L.H. (1992) Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole anti-infectives.
Clin Pharmacokinet., 23, 328-364

Lin, J.H., Lu, A.Y. (1998) Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications.
Clin Pharmacokinet., 35, 361-390

Martin, C., Sastre, B., Mallet, M.N., Bruguerolle, B., Brun, J.P., De Micco, P., Gouin, F. (1991) Pharmacokinetics and tissue penetration of a single 1,000-milligram, intravenous dose of metronidazole for antibiotic prophylaxis of colorectal surgery. *Antimicrob Agents Chemother.*, 35, 2602-2605

Maurice, M., Pichard, L., Daujat, M., Fabre, I., Joyeux, H., Domergue, J., Maurel, P. (1992) Effects of imidazole derivatives on cytochromes P450 from human hepatocytes in primary culture. *FASEB J.*, 6, 752-758

Monahan, B.P., Ferguson, C.L., Killeavy, E.S., Lloyd, B.K., Troy, J., Cantilena, L.R. Jr (1990) Torsades de pointes occurring in association with terfenadine use. *JAMA.*, 264, 2788-2790

Obach, R.S., Walsky, R.L., Venkatakrishnan, K., Houston, J.B., Tremaine, L.M. (2005) In vitro cytochrome P450 inhibition data and the prediction of drug-drug interactions: qualitative relationships, quantitative predictions, and the rank-order approach. *Clin Pharmacol Ther.*, 78, 582-592

Page, R.L., 2nd, Klem, P.M., Rogers, C. (2005) Potential elevation of tacrolimus trough concentrations with concomitant metronidazole therapy. *Ann Pharmacother.*, 39, 1109-1113

Patterson, B.D. (1994) Possible interaction between metronidazole and carbamazepine.

Ann Pharmacother., 28, 1303-1304

Penzak, S.R. Mechanisms of drug interactions. 2: transport proteins. In: Piscitelli, S.C., Rodvold, K.A., eds. Drug interactions in infectious diseases 2nd ed. Totowa, NJ: Human Press. 2005: 44-82.

Perencevich, M., Burakoff, R. (2006) Use of antibiotics in the treatment of inflammatory bowel disease.

Inflamm Bowel Dis., 12, 651-664

Podolsky, D.K. (2002) Inflammatory bowel disease.

N Engl J Med., 347, 417-429

Roedler, R., Neuhauser, M.M., Penzak, S.R. (2007) Does metronidazole interact with CYP3A substrates by inhibiting their metabolism through this metabolic pathway? Or should other mechanisms be considered?

Ann Pharmacother., 41, 653-658

Rutgeerts, P., Hiele, M., Geboes, K., Peeters, M., Penninckx, F., Aerts, R., Kerremans, R. (1995) Controlled trial of metronidazole treatment for prevention of Crohn's recurrence after ileal resection.

Gastroenterology., 108, 1617-1621

Saeki, T., Ueda, K., Tanigawara, Y., Hori, R., Komano, T. (1993) Human P-glycoprotein transports cyclosporin A and FK506.

J Biol Chem., 268, 6077-6080

Shapiro, L.E., Shear, N.H. (2002) Drug interactions: Proteins, pumps, and P-450s.

J Am Acad Dermatol., 47, 467-484

Shimada, T., Yamazaki, H., Mimura, M., Inui, Y., Guengerich, F.P. (1994)

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.

J Pharmacol Exp Ther., 270, 414-423

Shivananda, S., Lennard-Jones, J., Logan, R., Fear, N., Price, A., Carpenter, L., van Blankenstein, M. (1996) Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD).

Gut., 39, 690-697

Spina, E., Pisani, F., Perucca, E. (1996) Clinically significant pharmacokinetic drug interactions with carbamazepine. An update.

Clin Pharmacokinet., 31, 198-214

Steinhart, A.H., Feagan, B.G., Wong, C.J., Vandervoort, M., Mikolainis, S., Croitoru, K., Seidman, E., Leddin, D.J., Bitton, A., Drouin, E., Cohen, A., Greenberg, G.R. (2002) Combined budesonide and antibiotic therapy for active Crohn's disease: a randomized controlled trial. *Gastroenterology.*, 123, 33-40

Streetman, D.S., Bertino, J.S. Jr, Nafziger, A.N. (2000) Phenotyping of drug-metabolizing enzymes in adults: a review of in-vivo cytochrome P450 phenotyping probes. *Pharmacogenetics.*, 10, 187-216

Sutherland, L., Singleton, J., Sessions, J., Hanauer, S., Krawitt, E., Rankin, G., Summers, R., Mekhjian, H., Greenberger, N., Kelly, M. (1991) Double blind, placebo controlled trial of metronidazole in Crohn's disease. *Gut.*, 32, 1071-1075

Thiebaut, F., Tsuruo, T., Hamada, H., Gottesman, M.M., Pastan, I., Willingham, M.C. (1987) Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 84, 7735-7738

Thummel, K.E., Wilkinson, G.R. (1998) In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 38, 389-430

Timmer, A., Breuer-Katschinski, B., Goebell, H. (1999) Time trends in the incidence and disease location of Crohn's disease 1980-1995: a prospective analysis in an urban population in Germany.

Inflamm Bowel Dis., 5, 79-84

Tucker, G.T., Houston, J.B., Huang, S.M. (2001) Optimizing drug development: strategies to assess drug metabolism/transporter interaction potential--toward a consensus.

Pharm Res., 18, 1071-1080

Vincent, F., Glotz, D., Kreft-Jais, C., Boudjeltia, S., Duboust, A., Bariety, J. (1994) Acute kidney failure in a patient treated with cyclosporine A and metronidazole following kidney transplantation.

Therapie., 49, 155

von Moltke, L.L., Greenblatt, D.J., Schmider, J., Wright, C.E., Harmatz, J.S., Shader, R.I. (1998) In vitro approaches to predicting drug interactions in vivo.

Biochem Pharmacol., 55, 113-122

Wang, J.S., Backman, J.T., Kivisto, K.T., Neuvonen, P.J. (2000) Effects of metronidazole on midazolam metabolism in vitro and in vivo.

Eur J Clin Pharmacol., 56, 555-559

Wang, Y., Tang, Y., Moellmann, H., Hochhaus, G. (2003) Simultaneous quantification of budesonide and its two metabolites, 6beta-hydroxybudesonide and 16alpha-hydroxyprednisolone, in human plasma by liquid chromatography negative electrospray ionization tandem mass spectrometry.

Biomed Chromatogr., 17, 158-164

Yokogawa, K., Takahashi, M., Tamai, I., Konishi, H., Nomura, M., Moritani, S., Miyamoto, K., Tsuji, A. (1999) P-glycoprotein-dependent disposition kinetics of tacrolimus: studies in mdr1a knockout mice.

Pharm Res., 16, 1213-1218

Zylber-Katz, E., Rubinger, D., Berlatzky, Y. (1988) Cyclosporine interactions with metronidazole and cimetidine.

Drug Intell Clin Pharm., 22, 504-505

7. Danksagung

Herrn Professor C.H. Gleiter, als Doktorvater meiner Dissertation möchte ich einen herzlichen Dank für die Bereitstellung des Themas und für die Möglichkeit, die vorliegende Arbeit in seinem Institut für Klinische Pharmakologie durchführen zu können, aussprechen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Dr. Richard Fux für die sehr angenehme Betreuung bei der Anfertigung der Arbeit, für die Einführung in das Thema, seine tatkräftige Unterstützung mit seinem Fachwissen und seiner Erfahrung, sowie für die Korrektur und Durchsicht der Dissertation. Besonders hervorheben möchte ich seinen Beistand zu jeder Zeit und das stets freundschaftliche Arbeitsklima.

Ebenso möchte ich mich bei meinem Bruder Dr. Tobias Röck bedanken, der mich immer in vielfältiger Weise mit Rat und Tat unterstützte.

Für die freundliche Aufnahme und die vielfältige Unterstützung, die mir während meiner Arbeit entgegengebracht wurde, bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern des Pharmakologischen Instituts.

