

1 Einleitung

1.1 Übersicht über das Thema Pharmakokinetik

In der modernen Arzneimitteltherapie und -forschung gilt der Grundsatz, dass ein pharmazeutischer Wirkstoff an eine molekulare Zielstruktur binden muss, damit ein biologischer Effekt ausgelöst werden kann. Unter Zielstrukturen, auch *Targets* genannt, werden Rezeptoren, Enzyme, Ionenkanäle und Transporter zusammengefasst. Die Rezeptortheorie (Maehle *et al.*, 2002) wurde durch Paul Ehrlich mitbegründet, der zu Beginn des 19. Jahrhunderts postulierte, dass bestimmte chemische Strukturen auf der Zelle für die selektive Bindung von Substanzen verantwortlich sind und dass die „Medikamente nicht wirken, wenn sie nicht gebunden sind“ (*Corpora non agunt nisi fixata*, Ehrlich, 1909, S. 214):

„Beherrscht wird das ganze Gebiet von einem ganz einfachen, ich möchte sagen selbstverständlichen Grundsatz. Wenn in der Chemie das Gesetz gilt: *corpora non agunt nisi liquida*, so ist für die Chemotherapie maßgebend: *corpora non agunt nisi fixata!*“

Für Enzyme beschrieb Emil Fischer 1894 das Schlüssel-Schloss-Prinzip am Beispiel der spezifischen Bindung zwischen Enzym und Substrat (Fischer, 1894):

„Um ein Bild zu gebrauchen, will ich sagen, dass Enzym und Glucosid wie Schloss und Schlüssel zu einander passen müssen, um eine chemische Wirkung auf einander ausüben zu können.“

Eine nicht-kovalente Wechselwirkung führt zu einem Komplex zwischen Substrat und Enzym, dessen relative Bindungsstärke man als Affinität bezeichnet. Um der konformationellen Flexibilität der beiden Bindungspartner Rechnung zu tragen, wurde schließlich das Induced-Fit-Konzept („Hand-im-Handschuh-Prinzip“) geprägt (Koshland, 1958).

Ein Beispiel für ein Enzym als Zielstruktur ist die Neuraminidase des Grippevirus, welches sich in den Epithelzellen der Atemwege repliziert. Der antivirale Wirkstoff Oseltamivir (Tamiflu®), der bei der medikamentösen Therapie der Grippe verwendet wird, bindet an die virale Neuraminidase und hemmt dadurch ihre Funktion. Dies führt dazu, dass sich das Virus nach der Replikation nicht

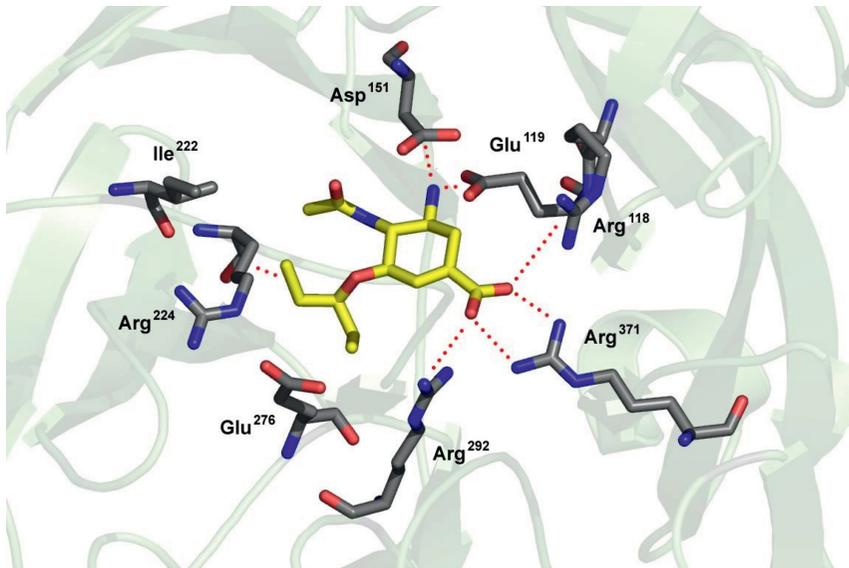


Abb. 1.1 Damit ein pharmazeutischer Wirkstoff einen biologischen Effekt auslösen kann, muss er an ein molekulares *Target* binden. Die Abbildung zeigt den antiviralen Wirkstoff Oseltamivir (Tamiflu®, gelb), gebunden an das Enzym Neuraminidase N1 des Influenza-Virus A vom Subtyp H5N1. Rot eingezeichnet sind die mutmaßlichen inter-

molekularen Wechselwirkungen, welche der Wirkstoff mit dem Enzym eingeht. Die Bindung blockiert die Active Site des Enzyms und damit dessen Funktion und verhindert die Vermehrung des Virus (Koordinaten aus Russell *et al.*, 2006; Bild erstellt mit PyMOL, <http://pymol.sourceforge.net>).

mehr von der Wirtszelle lösen und sich deshalb nicht weiter vermehren kann (Wutzler & Vogel, 2000). Die Bindung von Oseltamivir an die Neuraminidase ist in Abbildung 1.1 dargestellt.

Neben der Bindungsstärke, der *Affinität* zum Target, ist die *Selektivität* ein weiterer wichtiger Aspekt. Der Wirkstoff soll nur an ein definiertes Target binden (z.B. an Proteine des Grippevirus), nicht aber an andere Rezeptoren (z.B. körpereigene Proteine). Eine unselektive, d.h. gleichzeitige Hemmung verschiedener Targets kann zu Toxizität und unerwünschten Wirkungen führen.

Eine starke und selektive Bindung eines Wirkstoffs an eine Zielstruktur ist aber nur eine Voraussetzung für einen biologischen Effekt und damit eine effektive medikamentöse Therapie. Eine weitere essentielle Bedingung ist, „dass der Wirkstoff den Wirkort überhaupt in ausreichender Konzentration erreicht“ (Clark, 1933). Oseltamivir beispielsweise wird peroral in Form von Kapseln verabreicht und muss aus dem Darm zu den Epithelzellen der Atemwege und zu den Grippeviren gelangen.

Einem Wirkstoff – oder der Gesamtheit aller Wirkstoffmoleküle aus der Arzneiform – stellen sich auf dem Weg aus dem Darm zur Zielstruktur (z.B. der Lunge) zahlreiche *Barrieren* in den Weg, welche den Transport behindern und die Menge

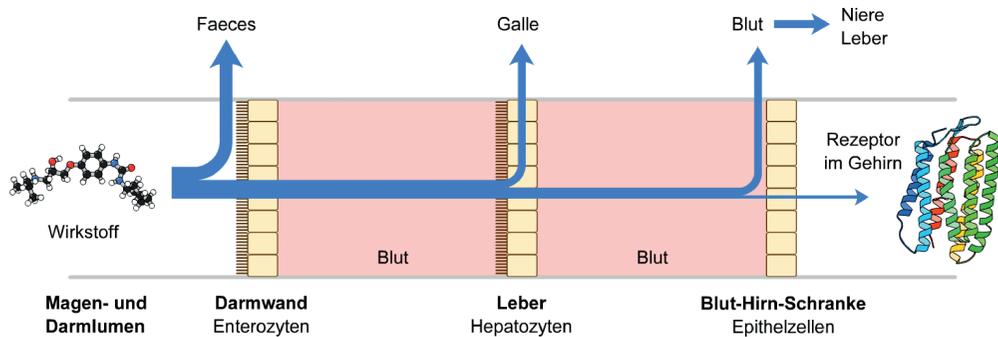


Abb. 1.2 Die Abbildung illustriert Beispiele von Barrieren, die sich einem Wirkstoff auf dem Weg zur molekularen Zielstruktur in den Weg stellen. Nur ein kleiner Teil der verabreichten Dosis erreicht tatsächlich das molekulare Target, welches sich hier im Gehirn befindet.

des Wirkstoffs, der schließlich das *Target* erreicht, signifikant reduzieren können (s. Abb. 1.2, van de Waterbeemd *et al.*, 2001). Unter Barrieren versteht man Transportbarrieren (z.B. Membranen, Efflux-Proteine), physikochemische Barrieren (z.B. Löslichkeit, pH) und biochemische Barrieren (z.B. metabolisierende Enzyme, Plasmaprotein-Bindung). Bereits der Zerfall und die Freisetzung (*Liberation*) des Wirkstoffs aus der Arzneiform im Darm stellen eine erste Barriere dar. Der Wirkstoff muss im Darm in Lösung gehen, damit er absorbiert werden kann. Hierbei spielen u.a. die Arzneiform (Voigt, 2000), der Inhalt des Magen-Darm-Trakts und die physikochemischen Eigenschaften des Wirkstoffs eine entscheidende Rolle (Hörter & Dressmann, 2001). Wird der Wirkstoff unvollständig aus der Arzneiform freigesetzt, kann nur ein Teil der gesamten Dosis den systemischen Kreislauf und damit die molekulare Zielstruktur erreichen. Säurelabile Wirkstoffe können zudem im sauren Milieu des Magens (pH 1 bis 2) abgebaut werden (z.B. Penicilline, Digoxin, Erythromycin, Protonenpumpen-Inhibitoren). Im Darm kann der Wirkstoff bereits bevor er das Target erreicht, biotransformiert werden und seine Aktivität verlieren (Doherty & Charman, 2002).

Eine wichtige Barriere ist die *Transportbarriere*. Wirkstoffe müssen nach der oralen Verabreichung auf dem Weg zu ihrem Target in der Regel mehrere Zellschichten überwinden. Die erste Zellschicht, auf die der oral verabreichte Wirkstoff trifft, ist das einschichtige Oberflächenepithel im Darm, das von den Darmzellen (Enterozyten) ausgebildet wird (Welsch, 2006). Der Prozess der Aufnahme des Wirkstoffs aus dem Darm in die Blutgefäße der Darmzotten wird als *intestinale Absorption* bezeichnet. Die verschiedenen möglichen Transportwege an der apikalen Enterozytenmembran sind in Abbildung 1.3 dargestellt. Wirkstoffe können zwischen den Zellen passieren (sog. *parazellulärer Transport*). Dieser Transportweg spielt aber eine untergeordnete Rolle und ist auf hydrophile Wirkstoffe mit einem Molekulargewicht von < 200 g/mol beschränkt (z.B. Aciclovir, Paracetamol), da die Zellen in den Zwischenräumen durch Verschlusskontakte (*Tight Junctions*) eine Barriere gegen den freien Stofftransport ausbilden (z.B. Schnee-

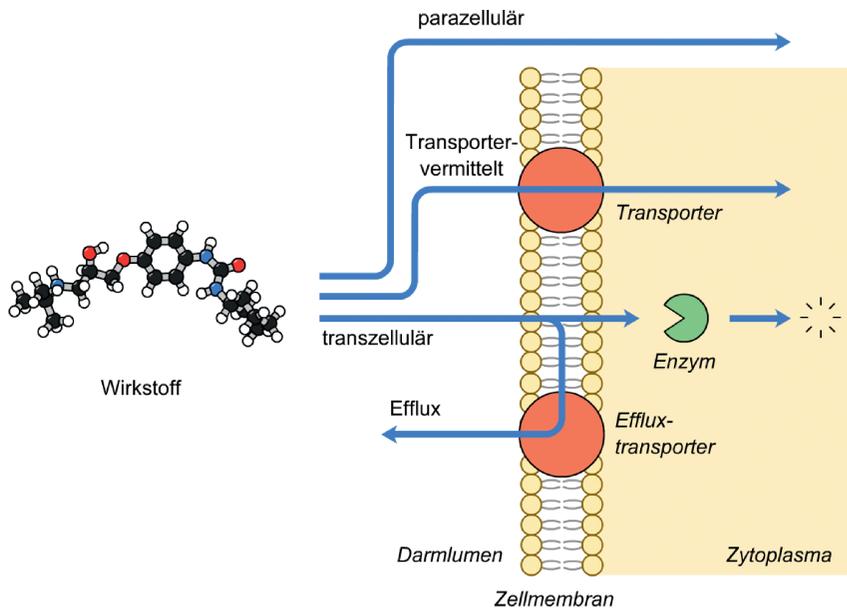


Abb. 1.3 Die Abbildung zeigt, über welche Transportwege ein pharmazeutischer Wirkstoff die apikale Zellmembran eines Enterozyten im Darm passieren kann.

berger & Lynch, 2004). Die meisten Wirkstoffe passieren die Zelle *transzellulär* und müssen dabei hydrophobe Zellmembranen überwinden. Hier sind verschiedene Transportmechanismen möglich. Ein lipophiler Wirkstoff kann passiv über die Membran diffundieren. Für hydrophile und geladene Wirkstoffe ist die Zellmembran – die im inneren Kern hydrophob ist – jedoch eine Transportbarriere. Die physikochemischen Eigenschaften eines Wirkstoffs determinieren deshalb sein Verhalten gegenüber der Transportbarriere.

Oseltamivir beispielsweise ist nur durch einen chemischen Kunstgriff oral absorbierbar. Der Wirkstoff wird nämlich erst nach der Absorption in den Enterozyten und in der Leber durch enzymatische Hydrolyse freigesetzt (s. Abb. 1.4). Die Umwandlung erfolgt nahezu vollständig. Es handelt sich um einen sogenannten *Prodrug*, ein Begriff, der 1958 von Adrien Albert geprägt wurde:

„Sometimes the substance as administered, is only a ‚pro-drug‘ which has to be broken down to give the true drug.“ (Albert, 1958, S. 421).

Die polare und im Magen-Darm-Trakt positiv geladene Carboxylatgruppe des aktiven Wirkstoffs wurde mit Ethanol verestert, damit der Wirkstoff intestinal absorbiert wird und als Kapsel oral verabreicht werden kann (Li *et al.*, 1998).

Der Körper ist auf effiziente Mechanismen angewiesen, die auch hydrophile und geladene Nahrungsbestandteile die Membranbarriere passieren lassen, z.B. Ionen, Nukleinsäuren, Aminosäuren, Peptide, Lipide oder Zucker. Das wird mit *Transportproteinen*, d.h. Transportern und Kanälen, erreicht, die den selektiven

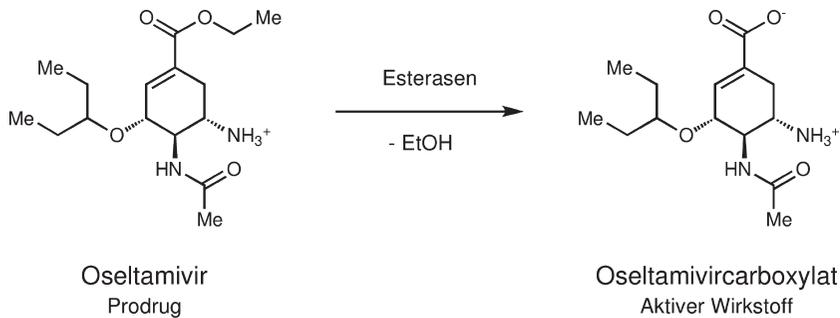


Abb. 1.4 Aktivierung des Prodrugs Oseltamivir zum aktiven Wirkstoff Oseltamivircarboxylat.

Transport bestimmter Substanzen und Substanzgruppen über Zellmembranen durch verschiedenartige Mechanismen begünstigen. Glucose beispielsweise kann aufgrund ihrer hydrophilen Hydroxylgruppen Zellmembranen nicht passiv überwinden. Der Zucker wird deshalb über die Transporter GLUT (Glucose-Transporter, z.B. an der Blut-Hirn-Schranke) und SGLT (Natrium-dependent Glucose Transporter, z.B. im Darm) über Membranen transportiert (Brown, 2000). Transportproteine können auch für den Transport von pharmazeutischen Wirkstoffen über die Membran ausgenutzt werden (Amidon & Sadée, 1999).

Transporter transportieren aber auch in die Gegenrichtung (sog. *Efflux*). Lipophile Substanzen, die in die Membran diffundiert sind, werden so wieder aus der Membran zurück in den Darm transportiert. Der am besten charakterisierte Efflux-Transporter ist P-Glykoprotein (P-gp), ein ATP-abhängiger Transporter. P-gp wurde zunächst als Faktor bei der Entstehung der Kreuzresistenz von Tumorzellen gegenüber Zytostatika entdeckt (Gottesman, Fojo & Bates, 2002). Später wurde gezeigt, dass der Transporter auch an physiologischen Geweben, z.B. im Magen-Darm-Trakt, vorkommt (Thiebaut *et al.*, 1987). In den 90er Jahren wurde beispielsweise mit Knockout-Mäusen gezeigt, dass P-gp die Funktion einer Transportbarriere gegenüber Xenobiotika und pharmazeutischen Wirkstoffen wahrnimmt (z.B. Zhang & Benet, 1999). Als weiterer Transportweg ist noch die Rezeptor-abhängige Endo- und Transzytose zu nennen, bei dem Vesikel, die durch einen Einstülpungsvorgang der Zellmembran entstehen, den Wirkstoff einschließen und in und über die Zelle transportieren.

Die diskutierten Transportprozesse an der Zellmembran sind jedoch nicht nur bei der Absorption im Darm relevant, sondern auch bei allen weiteren pharmakokinetischen Prozessen, welchen der Wirkstoff im Organismus ausgesetzt ist, d.h. der Biotransformation, der Verteilung und der Elimination. Bei der ersten Leberpassage (*hepatischer First-Pass*) strömt das venöse Blut aus dem Darm an den Leberzellen (Hepatozyten) vorbei in Richtung Herz (Welsch, 2006). Neben zahlreichen Funktionen im Stoffwechsel hat die Leber durch ihre strategische Position zwischen Darm und systemischem Kreislauf eine wichtige Entgiftungs- und Ausscheidungsfunktion. Substanzen ohne physiologische Funktionen, sogenannte *Xenobiotika* (z.B. Zusatzstoffe in der Nahrung, Drogen oder Agrochemikalien)

können hier durch Enzyme biotransformiert und der Ausscheidung in die Galle oder der Niere zugeführt werden (Testa, 1995; 2006). So werden lipophile Wirkstoffe beispielsweise besser wasserlöslich gemacht, damit sie effizient eliminiert werden können (Beyer, 1990). Durch diese erste Leberpassage kann ein wesentlicher Anteil des Wirkstoffs inaktiviert und eliminiert werden (z.B. Thummel, Kunze & Shen, 1997).

Eine kausale Bedingung für die hepatische Biotransformation (den Metabolismus) und die hepatische Elimination ist die Aufnahme in die Leberparenchymzellen (Hepatozyten) über deren sinusoidale Zellmembran, da die metabolischen Reaktionen vorwiegend intrazellulär stattfinden. Bei dieser Aufnahme sind wiederum dieselben Transportprozesse involviert, die oben bereits diskutiert wurden. Der biotransformierte und unveränderte Wirkstoff kann wieder zurück ins Blut oder über eine weitere Membran in die Galle transportiert und der Ausscheidung zugeführt werden (Transporter an der Leber: Kullak-Ublick, Stieger & Meier, 2004).

Hat der Wirkstoff nach der ersten Leberpassage schließlich die systemische Zirkulation erreicht, muss er aus dem Blut zu seiner molekularen Zielstruktur gelangen. Wenn diese außerhalb der Blutgefäße liegt, muss er dazu in das Gewebe verteilt werden (*Distribution*). Je nach Zielstruktur müssen erneut zelluläre Barrieren überwunden werden, zum Beispiel die Blut-Hirn-Schranke, die vom abgedichteten Endothel der Blutgefäße im Gehirn ausgebildet wird. Die Passage aus den Blutgefäßen in das Hirngewebe wird durch diese Barriere erschwert. Wiederum entscheiden die diskutierten Transportprozesse, die Eigenschaften des Wirkstoffs und die spezifischen Eigenschaften der Barriere, ob eine Substanz diese Barriere passieren kann. Die Blut-Hirn-Schranke stellt ein großes Problem für die Entwicklung zentral wirksamer Medikamente dar, da sie generell für Wirkstoffe schlecht durchlässig ist (Pardridge, 2005).

Sobald der Wirkstoff in den Organismus aufgenommen ist, beginnt auch seine Ausscheidung (*Elimination*). Neben der hepatischen Elimination sind insbesondere die Nieren an der Ausscheidung der Wirkstoffe beteiligt (renale Elimination). Alternative Ausscheidungswege, zum Beispiel über die Lunge, sind möglich und für einige Xenobiotika bedeutsam (z.B. Methanol). Die renale Klärung des Blutes wird von drei Prozessen bestimmt, der *Filtration*, der *Reabsorption* und der *Sekretion*.

Die Reabsorption und die Sekretion sind erneut Prozesse, bei denen der Wirkstoff eine Zellschicht und Zellmembranen passieren muss (oder parazellulär transportiert wird). Wiederum sind die diskutierten Transportprozesse beteiligt und determinieren zusammen mit den Eigenschaften des Wirkstoffs (und weiteren Faktoren, z.B. der Proteinbindung) das quantitative Ausmaß der Ausscheidung.

Oseltamivir, welches nach der Aktivierung durch Hydrolyse als Oseltamivircarboxylat vorliegt, wird vorwiegend renal ausgeschieden. Es wird sowohl filtriert als auch sekretiert. Da Oseltamivircarboxylat eine negative Ladung trägt, erfolgt die Sekretion vermutlich über Organische Anionen-Transporter (OAT). Da die Sekretion mit Probenecid inhibiert werden kann (Hill *et al.*, 2002) wurde auch speku-

liert, dass im Fall einer Grippepandemie das rare Oseltamivir mit Probenecid gestreckt werden könnte (Butler, 2005). Dies analog zu Penicillin, dessen Wirkdauer durch Probenecid signifikant verlängert werden kann (z.B. Burnell & Kirby, 1951).

Zusammenfassend sind Transportprozesse und Transportbarrieren entscheidend am Schicksal eines pharmazeutischen Wirkstoffs im Organismus beteiligt, d.h. an seiner Absorption, der Distribution, am Metabolismus und an der Elimination. Diese Prozesse, die mit der Freisetzung (Liberation) unter dem Begriff der *Pharmakokinetik* zusammengefasst werden (Dost, 1953; 1968), stehen wiederum in direktem Zusammenhang mit der *Pharmakodynamik* (d.h. den Effekten des Wirkstoffs, unerwünschten Wirkungen, Interaktionen und Kontraindikationen). Schließlich sind Transportproteine auch selbst interessante Targets für die Pharmakotherapie. So gehören etwa die Protonenpumpen-Inhibitoren (z.B. Omeprazol, Antramups[®], Target: H⁺/K⁺-ATPase), die Antidepressiva (z.B. Fluoxetin, Fluctine[®], Prozac[®], Target: Neurotransmitter-Transporter) und die Calcium-Antagonisten (z.B. Amlodipin, Norvasc[®], Target: Calciumkanäle) zu den weltweit am meisten verwendeten Medikamenten (IMS Health).

Literatur

- Albert A. Chemical aspects of selective toxicity. *Nature*, 1958, 182, 421–422.
- Amidon G.L. & Sadée W (Hrsg.). Membrane transporters as drug targets. New York: Kluwer Academic, 1999.
- Beyer K-H. Biotransformation der Arzneimittel. Berlin, Heidelberg: Springer, 1990.
- Brown G.K. Glucose transporters: structure, function and consequences of deficiency. *Journal of Inherited & Metabolic Diseases*, 2000, 23, 237–246.
- Burnell J.M & Kirby W.M.M. Effectiveness of a new compound, Benemid, in elevating serum penicillin concentrations. *Journal of Clinical Investigation*, 1951, 30(7), 697–700.
- Butler D. Wartime tactic doubles power of scarce bird flu-drug. *Nature*, 2005, 438(3), 6.
- Clark A.J. The mode of action of drugs on cells. London: Arnold, 1933.
- Doherty M.M. & Charman W.N. The mucosa of the small intestine. How clinically relevant as an organ of drug metabolism? *Clinical Pharmacokinetics*, 2002, 41(4), 235–253.
- Dost F.H. Der Blutspiegel. Leipzig: Thieme, 1953.
- Dost F.H. Grundlagen der Pharmakokinetik. Stuttgart: Thieme, 1968.
- Ehrlich P. Chemotherapie von Infektionskrankheiten, 1909. In: Himmelwelt F. The collected papers of Paul Ehrlich. Volume III – Chemotherapy. London, Oxford, New York, Paris: Pergamon Press, 1960.
- Fischer E. Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 1894, 27 (3), 2985–2993.
- Gottesman M.M., Fojo T. & Bates S.E. Multidrug resistance in cancer: role of atp-dependent transporters. *Nature Reviews Cancer*, 2002, 2, 48–58.
- Hörter D. & Dressman J.B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advances Drug Delivery Reviews*, 2001, 46, 75–87.
- Hill G., Cihlar T., OO C., Ho E.S., Prior K., Wiltshire H., Barrett J., Liu B. & Ward P. The anti-influenza drug oseltamivir exhibits low potential to induce pharmacokinetics drug interactions via renal secretion – correlation of in vivo and in vitro studies. *Drug Metabolism and Disposition*, 2002, 30, 13–19.
- Koshland D.E. Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis. *Proceedings of the National Academy of Science*, 1958, 44 (2), 98–104.

- Kullak-Ublick G.A., Stieger B. & Meier P.J. Enterohepatic bile salt transporters in normal physiology and liver disease. *Gastroenterology*, **2004**, *126*, 322–342.
- Li W., Escarpe P.A., Eisenberg E.J., Cundy K.C., Sweet C., Jakeman K.J., Merson J., Lew W., Williams M., Zhang L., Kim C.U., Bischofberger N., Chen M.S. & Mendel D.B. Identification of GS 4104 as an orally bioavailable prodrug of the influenza virus neuraminidase inhibitor GS 4071. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1998**, *42*(3), 647–653.
- Maehle A-H., Prüll C-R & Halliwell R.F. The emergence of the drug receptor theory. *Nature Reviews Drug Discovery*, **2002**, *1*, 637–641.
- Pardridge W.M. The blood-brain barrier: bottleneck in brain drug development. *NeuroRx*, **2005**, *2*, 3–14.
- Russell R.J., Haire L.F., Stevens D.J., Collins P.J., Lin Y.P., Blackburn G.M., Hay A.J., Gamblin S.J. & Skehel J.J. The structure of H5N1 avian influenza neuraminidase suggests new opportunities for drug design. *Nature*, **2006**, *443*, 45–49.
- Schneeberger E.E. & Lynch R.D. The tight junction: a multifunctional complex. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, **2004**, *286*, C1213–C1228.
- Testa B. Drug Metabolism. In: Wolff M.E (Hrsg.) Burger's Medicinal chemistry and drug discovery, Volume 1: Principles and practice. New York (etc.): John Wiley & Sons, **1995**.
- Testa B. & Krämer S.D. The biochemistry of drug metabolism: an introduction part 1. Principles and overview. *Chemistry & Biodiversity*, **2006**, *3*(10), 1053–1101.
- Thews G., Mutschler E. & Vaupel P. Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, **1991**.
- Thiebaut F., Tsuruo T., Hamada H., Gottesman M.M., Pastan I. & Willingham M.C. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **1987**, *84*(21), 7735–7738.
- Thummel E.K., Kunze K.L. & Shen D.D. Enzyme-catalyzed processes of first-pass hepatic and intestinal drug extraction. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **1997**, *27*, 99–127.
- van de Waterbeemd H., Smith D.A., Beaumont K. & Walker D.K. Property-based design: optimization of drug absorption and pharmacokinetics. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2001**, *44*(9), 1313–1333.
- Voigt R. Pharmazeutische Technologie. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, **2000**.
- Welsch U. Sobotta – Lehrbuch Histologie. München, Jena: Urban & Fischer, **2006**.
- Wutzler P. & Vogel G. Neuraminidase inhibitors in the treatment of influenza A and B – overview and case reports. *Infection*, **2000**, *28*(5), 261–266.
- Zhang Y. & Benet L.Z. The gut as a barrier to drug absorption. *Clinical Pharmacokinetics*, **2001**, *40*(3), 159–168.