

Stephanie Oechsler
Dr.sc.hum.

***In vitro* Untersuchungen zur Wechselwirkung psychotroper Substanzen mit Buprenorphin und Norbuprenorphin**

Geboren am: 02.05.1979 in Heidelberg
Staatsexamen am: 19.01.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Rechtsmedizin
Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. Gisela Skopp

Buprenorphin wird neben Methadon immer häufiger in der Substitutionstherapie eingesetzt. Polypharmazie und –toxikomanie bei Opiatabhängigen bergen ein erhöhtes Risiko unerwünschter oder toxischer Wechselwirkungen. Bereits in den in der Substitutionstherapie üblichen Dosen war in Verbindung mit weiteren Medikamenten, insbesondere Benzodiazepinen das Risiko eines atemdepressiven Effektes deutlich erhöht. Dies kann seine Ursache in pharmakodynamischen oder pharmakokinetischen Interaktionen haben. In einer Untersuchung an authentischen Proben konnte gezeigt werden, dass Buprenorphin überwiegend durch Glucuronidierung metabolisch eliminiert wird.

Bisher wurden Arzneimittelinteraktionen mit Buprenorphin an Cytochrom-Enzymen des Phase-I-Metabolismus untersucht. Allerdings fehlen bis jetzt noch ausreichende Erkenntnisse zu einer Beeinflussung von Enzymen des Phase-II-Metabolismus. Von besonderem Interesse sind in diesem Zusammenhang mögliche Auswirkungen einer kombinierten Aufnahme von Buprenorphin mit Amitriptylin, Nortriptylin, Lamotrigin, Oxazepam, Temazepam, Midazolam, Alprazolam und Nicotin als potentiellen Interaktionspartnern.

In vivo Studien an Probanden verbieten sich wegen der hohen Dosierung des Substitutionsmittels und einer möglichen, weiteren Gefährdung bei Stoffkombinationen bereits aus ethischen Gründen. *In vitro* Untersuchungen mit cDNA-klonierten Enzymen und humanen Lebermikrosomen bieten deshalb eine geeignete Möglichkeit, das Interaktionsrisiko einer kombinierten Aufnahme von Buprenorphin und zentral nervös wirksamen Substanzen infolge einer metabolischen Hemmung der Glucuronidierung abschätzen zu können.

Die vorliegende Arbeit befasst sich daher mit *in vitro* Untersuchungen bezüglich pharmakokinetischer Interaktionen von forensisch relevanten Substanzen mit Buprenorphin und seinem Metaboliten Norbuprenorphin, die überwiegend in der Leber glucuronidiert werden.

Die für Buprenorphin und Norbuprenorphin erarbeitete Analysenmethode (LC-MS/MS) wurde auf die Glucuronide der beiden Substanzen und auf die verwendeten Inhibitoren erweitert. Neben einer weitgehenden Bestätigung bereits bekannter Enzyme konnte UGT1A1 als weiteres, an der Glucuronidierung von Norbuprenorphin beteiligtes Enzym identifiziert werden.

Nach Identifizierung der an der Glucuronidierung von Buprenorphin und Norbuprenorphin beteiligten UGT-Enzyme wurden die zugehörigen Kinetiken bestimmt. Hierzu wurden die Substanzen mit den für den hepatischen Metabolismus wichtigsten UGT-Isoenzymen inkubiert, die entsprechenden Glucuronide mittels LC-MS/MS quantifiziert und ausgewertet.

Zusätzlich zu Buprenorphin und Norbuprenorphin wurden die Kinetiken der Inhibitoren bestimmt. Buprenorphin und Norbuprenorphin wurden mit potentiellen Hemmstoffen in verschiedenen Konzentrationen inkubiert, um mögliche Interaktionspartner zu bestimmen. Es folgten Versuche zur Charakterisierung des Hemmpotentials, die je nach Hemmtyp über den Dixon-Plot und über den Kitz-Wilson-Plot ausgewertet wurden (K_i , K_I und k_{inact}).

Für Buprenorphin war *in vitro* außer über HLMS nur über das Isoenzym UGT2B7 eine Hemmung durch Oxazepam und Temazepam zu beobachten. Die Umsetzung von Norbuprenorphin hingegen wurde *in vitro* außer von HLMS sowohl über UGT1A1 als auch über UGT1A3 gehemmt. Hierbei spielte neben Temazepam Buprenorphin selbst als Inhibitor eine Rolle.

Die Interpretation der Hemmkonstanten wurde anhand von *in vitro-in vivo*-Abschätzungen mit Formeln, die für das CYP-Enzymsystem entwickelt wurden, und die sich dafür häufig bewährt haben, vorgenommen. Bis heute ist noch keine Interpretation speziell für das UGT-Enzymsystem verfügbar. Erst in Konzentrationen, die den therapeutischen Bereich der als Inhibitoren eingesetzten Arzneimittel um ein Mehrfaches überschreiten lag eine Erhöhung der AUC vor, die eine Interaktion vermuten ließ. Hier zeigte sich die Kombination von Buprenorphin mit Temazepam als risikoreich und führte zu einer erhöhten AUC von Buprenorphin als auch von Norbuprenorphin. Für Oxazepam, das wie Temazepam durch direkte Glucuronidierung eliminiert wird, ergab sich auch in Dosen über dem therapeutischen Bereich keine praxisrelevante Erhöhung der AUC. Eine metabolisch-aktivierte Hemmung des Buprenorphin-Metabolismus durch Amitriptylin war offensichtlich. Durch eine reduzierte metabolische Clearance kommt es zur Kumulation von Norbuprenorphin, das eine Atemdepression auslösen kann.

Die gewonnenen Daten können bei der forensisch-toxikologischen Beurteilung von schweren Intoxikationen, Medikamentenzwischen- oder Todesfällen in Bezug auf Buprenorphin hilfreich sein. Sie ermöglichen eine Abschätzung eventuell toxischer Wirkspiegel nach Kombination mit Psychopharmaka und können auch einen Beitrag zur Arzneimittelsicherheit leisten.