

Manuela Vay

Dr. sc. hum.

Analytische und klinische Untersuchungen zur Etablierung von Yohimbin als Marker zur Phänotypisierung von CYP2D6

Fach: Klinische Pharmakologie

Doktorvater: apl. Prof. Dr. med. Gerd Mikus

Der α_2 -Rezeptor Antagonist Yohimbin ist seit 1978 in Deutschland auf dem Markt mit der Indikation erektile Dysfunktion zugelassen, seine Pharmakokinetik ist bisher nur wenig charakterisiert. Vorhandene *in vitro* und *in vivo* Daten deuten auf einen primären Metabolismus über CYP2D6 zum Hauptmetaboliten 11-OH-Yohimbin. CYP2D6 ist ein hochpolymorphes Enzym, das für den Metabolismus von ca. 20 % der auf dem Markt zugelassenen Arzneimittel verantwortlich ist. Zur Bestimmung der CYP2D6 Aktivität werden aktuell im Rahmen einer Genotypisierung die vorhandenen Allele bestimmt und in einen etablierten Activity Score umgerechnet. Bei einer Genotypisierung wird jedoch nicht der aktuelle Status der Enzymaktivität erhoben, da beispielsweise eine Enzymhemmung durch andere Arzneimittel damit nicht identifiziert werden kann. Zur Phänotypisierung wird Dextromethorphan als Marker Substrat eingesetzt. CYP3A ist am Stoffwechsel von Dextromethorphan beteiligt und beide Primärmetabolite werden auch durch CYP2D6 und CYP3A metabolisiert. Die Halbwertszeit ist lang und macht damit die Verwendung in Arzneimittel-Interaktionsstudien schwierig.

Bisher sind nur wenige Methoden zur Quantifizierung von Yohimbin publiziert, der Hauptmetabolit 11-OH-Yohimbin wurde bisher nur in zwei Veröffentlichungen charakterisiert. Deshalb wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Methode zur Bestimmung von Yohimbin, dem Metaboliten 11-OH-Yohimbin und auch gleichzeitig des CYP2D6 Inhibitors Paroxetin entwickelt. Der Kalibrierbereich wurde aufgrund der erwarteten variablen Konzentrationen sehr breit gewählt und dann nach den Richtlinien von FDA und EMA validiert. Neben der Möglichkeit, gleichzeitig CYP2D6 Substrat Yohimbin und CYP2D6 Inhibitor Paroxetin bei sehr kleinen Probenvolumina sehr empfindlich zu bestimmen, ist auch die Pharmakokinetik des Metaboliten 11-

OH-Yohimbin möglich. Im Zuge dieser Methodenentwicklung wurden außerdem die Strukturen, der beim Zerfall entstehenden Produkt-Ionen von Paroxetin im Massenspektrometer identifiziert.

Des Weiteren wurde eine Methode zur Bestimmung von Yohimbin und 11-OH-Yohimbin im Pikogramm-Bereich entwickelt und nach FDA und EMA Richtlinien validiert, um die Pharmakokinetik nach Mikrodosierung bestimmen zu können. Neben sehr kurzen Laufzeiten war durch die hochsensitive Methode ein kleines Probenvolumen von 100 µl bei einem dennoch sehr breiten Kalibrierbereich möglich. Für die Entwicklung beider Assays und die Erstellung der Kalibriergeraden waren die Analyten in Reinform nötig. Freundlicherweise wurde zur Methodenentwicklung eine kleine Menge 11-OH-Yohimbin von Pierre Fabre überlassen.

Eine klinische Studie zur Charakterisierung der Pharmakokinetik von Yohimbin wurde an 16 gesunden Probanden mit verschiedenen CYP2D6 Genotypen durchgeführt. Yohimbin wurde in therapeutischer Dosierung von 5 mg und in einer Mikrodosierung von 50 µg appliziert. Dies wurde unter CYP2D6 Hemmung mittels Paroxetin wiederholt. An jedem Studientag wurde Midazolam mikrodosiert zur Bestimmung der CYP3A Aktivität verabreicht.

In der Studie zeigte sich eine sehr variable Pharmakokinetik von Yohimbin je nach Genotyp. Insbesondere die Clearance zeigte in der 50 µg Yohimbin Dosierung eine beinahe 1000-fache Variabilität (39.6-38822 ml/min), bei der 5 mg Dosierung lag die 600-fache Clearance Variabilität etwas niedriger. Bei der CYP2D6 Hemmung durch Paroxetin wurde die Clearance in EMs und IMs deutlich reduziert, während die Clearance von PMs nicht beeinflusst wurde. Damit kann anhand der Yohimbin Clearance selektiv die CYP2D6 Aktivität bestimmt werden. Yohimbin und Midazolam können als Mikrodosis zusammen verwendet werden, da sie sich gegenseitig nicht beeinflussen.

Zur Charakterisierung der Elimination von Yohimbin wurden nach Einnahme von Yohimbin Urinproben durch hochauflösende Massenspektrometrie nach weiteren Metaboliten untersucht. Dabei konnten keine anderen Metaboliten in signifikanten Mengen gefunden werden.

Durch Untersuchungen zu den Hemmeigenschaften von Yohimbin auf CYP-Enzyme konnte eine signifikante Hemmung nur für CYP2D6 festgestellt werden (IC_{50} von 0.31 µM).

Aufgrund der im Rahmen dieser Doktorarbeit gezeigten statistisch signifikanten Unterschiede in der Pharmakokinetik entsprechend der CYP2D6 Genotypen und der Änderung unter CYP2D6 Inhibition erscheint Yohimbin sehr selektiv für CYP2D6 zu sein. Eine Mikrodosis Yohimbin könnte ein vielversprechendes Substrat zur Phänotypisierung der CYP2D6 Aktivität sein. Eine Evaluation gegenüber Dextromethorphan muss sicher in Zukunft noch erfolgen, um die beste Substanz für eine Phänotypisierung von CYP2D6 mit größter Präzision zu identifizieren.